



Hinc patriam sustinet

**Instituto Superior de Agronomia**  
**Universidade Técnica de Lisboa**

# **Resposta da Proceccionária do Pinheiro e parasitóides oófagos a compostos voláteis emitidos pelas plantas hospedeiras**

**Ricardo Fernando de Almeida Monteiro**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
**Engenharia Florestal e dos Recursos Naturais**

Orientador: Doutora Manuela Rodrigues Branco Simões

**Júri:**

Presidente:

Doutora Maria Helena Reis de Noronha Ribeiro de Almeida, Professora Associada do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa.

Vogais:

Doutora Maria Rosa Santos de Paiva, Professora Catedrática da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa;

Doutora Manuela Rodrigues Branco Simões, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa.

Lisboa, 2010

## RESUMO

A processionária do pinheiro, *Thaumetopoea pityocampa* (Dennis & Schiffermüller) (Lepidoptera, Thaumetopoeidae) é um insecto desfolhador das agulhas dos pinheiros. Este insecto é considerado como uma das pragas mais importantes das florestas de resinosas do Mediterrâneo, responsável por estragos avultados no Sul da Europa e Norte de África.

Com o objectivo de avaliar o efeito de um composto volátil naturalmente emitido por várias plantas, Salicilato de Metilo (MeSa), na selecção das árvores hospedeiras pela processionária e taxas de parasitismo ófago, efectuaram-se observações da intensidade de oviposição, do número de machos atraídos por armadilhas com feromona sexual e recolha de posturas em árvores ou parcelas tratadas com MeSa e de controlo. Ao nível da parcela os resultados não evidenciaram efeito atractivo ou repulsivo significativo do MeSa sobre as fêmeas grávidas em oviposição ou sobre os machos. No entanto, ao nível da árvore individual, MeSa aparenta ter um efeito repulsivo sobre os machos, mas atractivo sobre as fêmeas. As consequências do MeSa sobre dois parasitóides oófagos da processionária do pinheiro: *Baryscapus servadeii* e *Ooencyrtus pityocampae*, evidenciaram que, no caso da primeira espécie, especialista, o MeSA não teve influência nas taxas de postura, enquanto no caso da segunda espécie, conhecida como um parasitóide generalista, houve um efeito positivo sobre as taxas de posturas, embora no limite de ser significativo. Mais observações serão necessárias para confirmar ou refutar esta hipótese.

**Palavras-chave:** Processionária do pinheiro, parasitóides, voláteis, semioquímicos, Salicilato de Metilo (MeSa)

## ABSTRACT

Processionary pine, *Thaumetopoea pityocampa* (Dennis & Schiffermüller) (Lepidoptera, Thaumetopoeidae) is an insect defoliator of pine needles. This insect is considered one of the major pests of coniferous forests of the Mediterranean, responsible for serious damage in southern Europe and North Africa.

In order to evaluate the effect of a volatile compound naturally emitted by various plants, Methyl Salicylate (MeSA), in the selection of host trees by the processionary moth and rates of oophagus parasitism, observations were carried out. The intensity of oviposition, the number of males attracted to traps baited with sex pheromone and collection of egg masses on trees or plots treated with MeSa and control were assessed. At the plot level, the results showed no significant attractive or repulsive effect from MeSa on the pregnant females in oviposition or on the males. However in individual trees, MeSa appears to have a repulsive effect in males, and an attractive effect in females. The study of the consequences of MeSa on two oophagus parasitoids of processionary pine moth: *Baryscapus servadeii* and *Ooencyrtus pityocampae*, showed that in the case of the first kind, an expert, the MeSA did not influence the rate of posture, whereas in the case of the second kind, known as a generalist parasitoid, there was a positive effect on rates of egg masses, although in the limit of being significant. More observations are needed to confirm or refute this hypothesis.

**Key-words:** green leaf volatiles, pine processionary moth, egg parasitoids, semiochemical, Methyl salicylate (MeSa)

## EXTENDED ABSTRACT

The pine processionary moth, *Thaumetopoea pityocampa* (Dennis & Schiffermüller) (Lepidoptera, Thaumetopoeidae), is a widely spread pine defoliator causing heavy damage resulting in pine tree decline in many countries from Southern Europe to the Near East and North Africa. Besides the significant economic damage due to severe defoliation, this insect also causes serious allergic reactions to humans and other mammals, by the urticating hairs of the late instar larvae.

*Thaumetopoea pityocampa* has one generation per year, characterized by summer adult flight, larval feeding during fall and winter, and pupation (in soil) followed by a short (until the next summer) or prolonged (up to three years) diapause. Larvae live gregariously, first building small provisional nests (end of summer through autumn), then a conspicuous winter silk nest, positioned in the crown periphery where most of the feeding takes place, in late autumn through early spring.

Pest management strategies available for this species are mostly chemical orientated, namely the use of insecticides, mostly antitriazines, or bioinsecticide with *Bacillus thuringiensis*. However, in urban areas or recreational parks, ecological methods would be advantageous, like the use of attractive or repellent substances.

Plants produce volatile organic compounds during and after herbivore attack for defense and signaling. A variety of predators and parasitoids has been found to locate pests via these herbivore induced plant volatiles (HIPV) in laboratory and field experiments.

Of the various HIPV's, Methyl Salicylate (MeSa) is commonly emitted by plants, attractive to natural enemies, and is easily available. MeSa is also directly attractive to natural enemies even when other semiochemical cues are present at close spatial range.

With the aim of evaluate the effect of MeSa in the selection of trees by the pine processionary moth, males and females, and by the egg parasitoids, field observations were carried on during the year 2008. Number of egg masses per tree, , number of males captured in traps lured with sexual pheromone and number of parasitoids emerged from eggmasses were monitored from trees and plots treated with MeSa, using four different doses, and without MeSa.

At plot level the results do not show any significant attractive or repulsive effect of MeSa on pregnant females in oviposition nor in males. However at individual tree level, MeSa appears to have a repulsive effect in males, and an attractive effect in females. The consequences of MeSa in the processionary moth oophagus parasitoids: *Baryscapus servadeii* and *Ooencyrtus pityocampae*, showed that in the case of the first specie, a know

specialist parasitoid of the pine processionary moth, MeSa did not have influence in the oviposition rates, while in the second species, known as a generalist parasitoid, there was indeed a positive effect in the oviposition rates, although in the limit to be significant ( $p=0.08$ ).

Additional observation and further studies are needed to confirm or refute this hypothesis.

## ÍNDICE

RESUMO.....	2
ABSTRACT.....	3
EXTENDED ABSTRACT.....	4
ÍNDICE.....	5
ÍNDICE DE FIGURAS.....	8
ÍNDICE DE QUADROS.....	10
1. INTRODUÇÃO.....	11
1.1. <i>A proçessionária do pinheiro</i> .....	12
1.2. <i>Parasitóides oófagos da proçessionária do pinheiro</i> .....	16
1.3. <i>Semioquímicos e sua relevância nas interações tróficas</i> .....	22
1.4. <i>Estratégias de controlo</i> .....	24
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	26
2.1. <i>Local de estudo</i> .....	26
2.2. <i>Delineamento dos ensaios de campo</i> .....	27
2.3. <i>Estudos de laboratório</i> .....	31
2.3.1. <i>Fecundidade das fêmeas</i> .....	31
2.3.2. <i>Taxas de parasitismo e monitorização da emergência dos parasitóides</i> .....	31
2.4. <i>Análise dos dados</i> .....	31
3. RESULTADOS.....	32
3.1. <i>Monitorização dos machos</i> .....	32
3.1.1. <i>Curva de voo</i> .....	32
3.1.2. <i>Comparação entre tratamentos</i> .....	32
3.2. <i>Oviposição</i> .....	35
3.3. <i>Parasitóides e curvas de emergência</i> .....	36
3.4. <i>Resposta dos parasitóides ao MeSa</i> .....	38

3.5. <i>Resposta das fêmeas grávidas ao MeSa</i> .....	40
4. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES.....	42
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47
6. AGRADECIMENTOS.....	57
ANEXOS.....	58
ANEXO 1 – Principais antagonistas naturais da processionária do pinheiro	
ANEXO 2 – Média de machos por dose	
ANEXO 3 – Comparação de machos capturados em pontos com MeSA (independentemente da dose) com o controlo	
ANEXO 4 – Resposta dos parasitóides ao MeSA	
ANEXO 5 – Resposta das fêmeas grávidas ao MeSa	
ANEXO 6 – Descrição morfológica das espécies dos parasitóides oófagos estudados	

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Fig. 1</b> – Aspecto de pêlos urticantes de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> . Foto do autor.....	<b>11</b>
<b>Fig. 2</b> - Aspecto de uma postura de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> . Foto do autor.....	<b>14</b>
<b>Fig. 3</b> - Postura de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> onde é possível observar ovos eclodidos ( <b>A</b> ), ovos parasitados por parasitóides oófagos ( <b>B</b> ) e ovo não eclodido ( <b>C</b> ). Foto do autor.....	<b>16</b>
<b>Fig. 4</b> - <i>Ooencyrtus pityocampae</i> , parasitóide oófago da processionária do pinheiro. Foto do autor.....	<b>18</b>
<b>Fig. 5</b> - Postura de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> mostrando o parasitóide <i>Baryscapus servadeii</i> . Foto do autor.....	<b>20</b>
<b>Fig. 6</b> - Pinheiros mansos, <i>Pinus pinea</i> , enfraquecidos por ataques intensos e sucessivos da processionária do pinheiro, Pinhal das freiras, Península de Setúbal, 2008. Foto do autor.....	<b>26</b>
<b>Fig. 7</b> - Localização geográfica da área de estudo, Pinhal das Freiras, Conselho de Setúbal. Os pontos evidenciam os locais dos ensaios realizados.....	<b>27</b>
<b>Fig. 8</b> - Representação esquemática das unidades de amostragem.....	<b>28</b>
<b>Fig. 9</b> - Pormenor do difusor de Salicilato de Metilo (MeSA).....	<b>29</b>
<b>Fig. 10</b> - Armadilhas de feromona para monitorização de machos de processionária de pinheiro.....	<b>30</b>
<b>Fig. 11</b> - Representação esquemática da unidade de amostragem de monitorização de machos de processionária de pinheiro em armadilhas de feromona.....	<b>30</b>
<b>Fig. 12</b> - Curva de voo dos machos de processionária de pinheiro <i>Thaumetopoea pityocampa</i> em armadilhas de feromona.....	<b>32</b>
<b>Fig. 13</b> - Valor médio e erro padrão do número médio de machos de processionária de pinheiro capturados no conjunto das três armadilhas (centro, esquerda e direita), consoante a dose.....	<b>33</b>
<b>Fig. 14</b> - Valor médio e erro padrão do número médio de machos de processionária de pinheiro capturados nas três armadilhas em cada posição (centro, esquerda e direita), consoante a dose.....	<b>34</b>
<b>Fig. 15</b> - Valor médio e erro padrão do desvio médio de machos de processionária de pinheiro capturados na árvore central em relação às outras posições (esquerda e direita), consoante a dose.....	<b>34</b>



<b>Fig. 16</b> - Valor médio e desvio padrão do número de ovos eclodidos, não eclodidos, parasitados e seu total no conjunto das posturas recolhidas em Setembro de 2007.....	<b>35</b>
<b>Fig. 17</b> - Percentagem de ovos eclodidos, não eclodidos, parasitados no conjunto das posturas recolhidas em Setembro de 2007 e respectiva taxa de mortalidade.....	<b>35</b>
<b>Fig. 18</b> - Percentagem de parasitismo, por espécie, das posturas recolhidas em 2008...	<b>36</b>
<b>Fig. 19</b> - Emergência em laboratório dos parasitóides sem diapausa, <i>Ooencyrtus pityocampae</i> e <i>Baryscapus servadeii</i> , das posturas recolhidas em Setembro e Outubro de 2008.....	<b>37</b>
<b>Fig. 20</b> - Distribuição mensal de frequências relativas (%) dos parasitóides emergidos.....	<b>37</b>
<b>Fig. 21</b> - Comparação do valor médio e desvio padrão do número de ovos eclodidos, não eclodidos, parasitados e seu total das posturas recolhidas em Setembro de 2007, com e sem tratamento (MeSa).....	<b>38</b>
<b>Fig. 22</b> - Percentagem de ovos eclodidos, não eclodidos, parasitados no conjunto das posturas recolhidas em Setembro de 2007 e respectiva taxa de mortalidade com e sem tratamento MeSa.....	<b>39</b>
<b>Fig. 23</b> - Número total de indivíduos de <i>Ooencyrtus pityocampae</i> e <i>Baryscapus servadeii</i> que emergiram das posturas segundo doses crescentes de Salicilato de metilo (MeSa).....	<b>39</b>
<b>Fig. 24</b> - Número médio de parasitóides emergidos com e sem MeSa.....	<b>40</b>
<b>Fig. 25</b> - Número médio de ninhos por árvore com e sem MeSa, em função da dose....	<b>41</b>

## ÍNDICE DE QUADROS

<b>Quadro 1</b> - Ciclo biológico da processionária do pinheiro, <i>Thaumetopoea pityocampa</i> Schiff (adaptado de Ferreira & Cabral, 1998).....	<b>13</b>
<b>Quadro 2</b> - Número de indivíduos de <i>Ooencyrtus pityocampae</i> e <i>Baryscapus servadeii</i> segundo doses crescentes de Salicilato de metilo (MeSa).....	<b>37</b>
<b>Quadro 3</b> - Comparação dos valores médios de nº de ovos por postura, desvio padrão, intervalo de valores encontrado e percentagem de Eclosão, encontrados no presente estudo, com valores encontrados por outros autores em Portugal e noutros países.....	<b>41</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A processionária do pinheiro, *Thaumetopoea pityocampa* (Dennis & Schiffermüller) (Lepidoptera, Thaumetopoeidae) é um insecto desfolhador das agulhas dos pinheiros considerado como uma das pragas mais importantes das florestas de resinosas do Mediterrâneo, responsável por estragos avultados no Sul da Europa e Norte de África (Devkota & Schmidt, 1990). Trata-se de uma espécie nativa em Portugal, observando-se ataques intensos deste insecto quer em espécies nativas da Bacia do Mediterrâneo (e.g., *Pinus pinaster* Aiton, *Pinus pinea* Linnaeus, *Pinus nigra* Arnold, *Pinus sylvestris* Linnaeus) quer em espécies exóticas introduzidas nesta região (e.g., *Pinus radiata* Don).

O consumo das agulhas pela processionária causa importantes prejuízos económicos por reduções de crescimento radial e alterações na forma do fuste. Em casos de ataques continuados em anos consecutivos os estragos podem levar à morte da árvore, em particular em árvores jovens. Por outro lado, as desfolhas implicam sempre perdas de produção lenhosa bem como a debilidade do arvoredo, tornando-o susceptível a ataques de pragas secundárias, tais como insectos subcorticais. Acresce ainda o facto deste insecto ser prejudicial para a saúde pública, devido aos pêlos urticantes que as larvas apresentam a partir do terceiro instar, e que causam irritações na pele e mucosas, desencadeando frequentemente prurido facial, dermatite, conjuntivite, dificuldades respiratórias e mesmo choques anafiláticos (Lamy, 1990; Vega *et al.*, 2000; Oliveira *et al.*, 2003) (Fig. 1).



Fig. 1 - Aspecto de pêlos urticantes de *Thaumetopoea pityocampa*. Foto do autor.

O sucesso reprodutivo deste lepidóptero depende da capacidade de encontrar um hospedeiro adequado sendo essa capacidade determinada pela estrutura do coberto florestal. Em particular sabe-se que povoamentos monoespecíficos e paisagens com pouca diversidade de coberto florestal são favoráveis aos desfolhadores florestais o que se deve, em parte, à concentração de recursos disponíveis, como revisto por Calvão *et al.* (2008).

Em Portugal, a alteração mais drástica do coberto florestal do território nacional fez-se no início do século XX, verificando-se uma rápida expansão do pinheiro-bravo (*Pinus pinaster*). Esta espécie ao ocupar cerca de 15.8%, da área florestal como monocultura e com o valor económico-social que representa, é a que requer também maior atenção (DGF, 2005/2006). Os ataques, por vezes intensos da processionária ameaçam estes povoamentos. Em parques turísticos, urbanos e peri-urbanos, por outro lado, este insecto constitui sobretudo um problema de saúde pública, ameaçando a saúde de animais e pessoas visitantes.

A estratégia de controlo da processionária disponível é essencialmente o recurso à luta química, destacando-se entre os insecticidas mais usados para este insecto as antiquitinas e o bioinsecticida à base de *Bacillus thuringiensis*. Todavia, em algumas situações, em particular em parques urbanos e peri-urbanos seria vantajoso o recurso a outras estratégias, ecologicamente mais sustentáveis, como seja meios de luta biotécnica com recurso a substâncias atractivas ou repelentes, cuja acção poderia ser usada para reduzir a população do insecto, tal como captura em massa; desviar a sua atenção de zonas a proteger por compostos repulsivos; ou ainda permitindo aumentar a eficácia dos seus inimigos naturais, tornando mais eficiente a sua procura de hospedeiros.

Este trabalho enquadra-se num conjunto de estudos, parcialmente suportados pelo projecto PTDC/AGR-CFL/73107/2006, sendo os principais objectivos do presente trabalho:

- i) Avaliar o efeito de um composto volátil naturalmente emitido por várias plantas, o Salicilato de Metilo (MeSA), na atracção ou repulsão de machos e fêmeas da processionária do pinheiro, *T. pityocampa*;
- ii) Avaliar o efeito do Salicilato de Metilo em dois parasitóides oófagos da processionária do pinheiro: *Baryscapus servadeii* e *Ooencyrtus pityocampae*;

Numa primeira parte introdutória é feita uma breve descrição da biologia da processionária do pinheiro, essencial à compreensão do presente estudo. De seguida, apresentar-se-á uma breve descrição das espécies parasitóides e, finalmente, será abordada a relevância dos semioquímicos nas interacções tróficas.

### 1.1. A proceccionária do pinheiro

A proceccionária é uma espécie univoltina, isto é, com um única geração anual, com período de voo dos adultos, e consequentemente de oviposição, no Verão e desenvolvimento larvar no Inverno. As larvas são gregárias desenvolvendo-se em grandes ninhos sedosos, posicionando-se com preferência em pinheiros ensolarados, e em partes da copa com exposição Sudeste-Oeste, o que permite uma maior acumulação térmica, favorecendo o desenvolvimento destes insectos, que ocorre durante o Inverno (e.g., Arnaldo & Torres, 2005). O facto de optar por árvores de bordadura e a posição do ninho ser geralmente na extremidade da flecha deve-se igualmente à sua preferência pela exposição solar (Severino, 2003).

Após o desenvolvimento larvar, as larvas descem ao solo para pupar. O período de pupação é variável consoante a região e o respectivo clima, sendo em geral mais precoce no Sul que no Norte. O ciclo completa-se, geralmente, dentro de um ano compreendendo uma diapausa de seis a nove meses no estado de pupa (Ferreira, 1992) (Quadro 1). No entanto pode-se verificar uma diapausa prolongada nalguns indivíduos, de um ou mais anos, vindo os adultos a emergir no Verão seguinte ou posteriores.

**Quadro 1** - Ciclo biológico da proceccionária do pinheiro, *Thaumetopoea pityocampa* Schiff (adaptado de Ferreira & Cabral, 1998)

J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
						++	++	++			
						••	••	••	•		
							--	--	--	--	--
--	--	--	--								
	00	00	00	00	00	00	00	00			

Legenda: •• ovos -- larvas 00 pupas ++ adultos

De um modo geral, pode dizer-se que os adultos emergem no Verão, mais cedo nas zonas de clima rigoroso do interior e nas zonas de altitude (Ferreira & Cabral, 1998).

As fêmeas após emergirem, normalmente, pouco se afastam dos locais onde se enterraram as larvas, dirigem-se para um local elevado onde permanecem imóveis. Ao fim de duas a quatro horas de inatividade começam a emitir feromona tornando-se atractivas para os machos (Ferreira, 1992). Estes emergem, em geral, primeiro que as fêmeas, têm hábitos crepusculares e após algumas horas de voo são atraídos pelas feromonas sexuais das fêmeas (Ferreira, 1992). Logo após o acasalamento, as fêmeas voam à procura das árvores hospedeiras mais favoráveis, chegando a percorrer alguns quilómetros antes da postura (Huchon & Demolin, 1971). As posturas têm o aspecto de um canudo, com as extremidades levemente convexas, cujo eixo é constituído pelas agulhas; externamente são revestidas e protegidas por escamas do abdómen das fêmeas (Fig. 2).

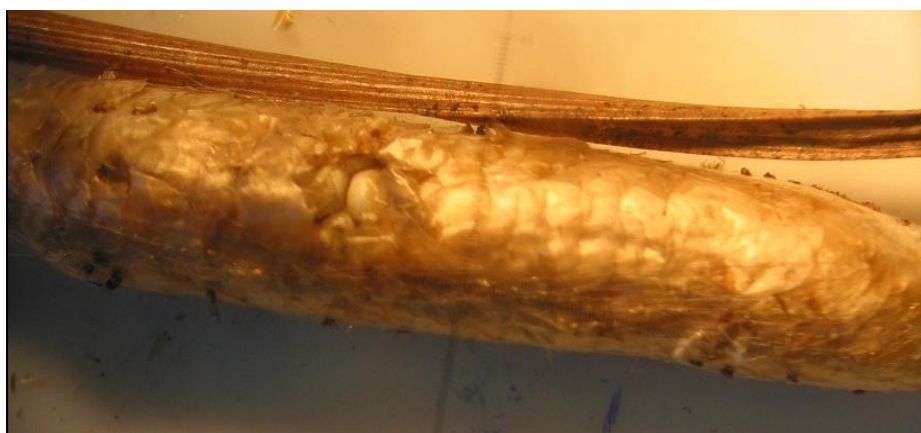


Fig. 2 - Aspecto de uma postura de *Thaumetopoea pityocampa*. Foto do autor.

A duração de vida dos imagos é curta, não ultrapassando os três a quatro dias (Ferreira & Cabral, 1999).

Os ovos sofrem um período de incubação de 20 a 30 dias, variável com a temperatura, iniciando-se a eclosão das larvas no fim do Verão, início do Outono (Ferreira & Cabral, 1999).

As larvas são gregárias logo desde a sua eclosão, começando a alimentar-se das agulhas mais próximas da postura. Tecem ninhos provisórios ténues em vários locais da copa e alimentam-se apenas do parênquima das folhas, deixando as nervuras (Ferreira & Cabral, 1999). Após 10 a 15 dias, tempo de duração do 1º instar, as larvas continuam a alimentar-se de forma semelhante, embora as zonas de alimentação sejam consideravelmente maiores, a duração desta fase é de 15 a 20 dias e corresponde ao 2º instar (Ferreira & Cabral, 1999).

No 3º instar as larvas começam a tecer um casulo mais compacto e a alimentação começa a ser crepuscular e nocturna, agrupando-se as larvas durante o dia dentro dos ninhos. Nesta fase as larvas alimentam-se já de toda a agulha deixando apenas a zona junto da bainha. É também no 3º instar que se desenvolvem os pelos urticantes (Ferreira & Cabral, 1999).

No 4º e 5º instares as larvas encontram-se já em ninhos definitivos bem compactos para se abrigarem durante os meses de Inverno. Nestes ninhos podem reunir-se larvas provenientes de várias posturas que assim aproveitam o calor do sol permitindo-lhes sobreviver e manter a actividade mesmo a baixas temperaturas (Ferreira & Cabral, 1999). A temperatura no seu interior pode atingir diferenças de 18°C em relação à temperatura exterior (Biliotti, 1962).

Entre o fim do Inverno e início da Primavera, isto é, de fins de Janeiro a princípios de Março começam as “procissões” das larvas, normalmente encabeçadas por uma fêmea. A “procissão” mantém-se coesa devido a estímulos tácteis entre as larvas até atingir o solo, onde estas se enterram iniciando a fase de pupa (Robredo, 1963; Ferreira, 1992).

Conhecem-se diversas espécies de inimigos naturais da processionária do pinheiro, que actuam sobre as várias fases do seu ciclo biológico. Entre os predadores salienta-se na fase de ovo, algumas espécies de insectos da família Tettigonidae (Martinho, 2003) e nos primeiros instares larvares algumas formigas e outros artrópodes, sendo particularmente eficaz a mortalidade exercida pela formiga argentina, *Linepithema humile* (Way et al., 1999). As aves são os principais predadores vertebrados, contribuindo para a diminuição das populações de *T. pityocampa*, entre estas destaca-se *Parus major* (chapim real), *Upupa epops* (poupa) e *Clamator glaudarius* (falso cuco) (Ceballos, 1969; Halperin, 1990; Battisti, 2000). Nas fases de ovo, larva e pupa, a processionária é afectada por vários insectos parasitóides que podem contribuir para aumentar expressivamente a sua mortalidade. Destes falaremos num ponto seguinte, por fazerem parte do nosso objecto de estudo.

## 1.2. Parasitóides oófagos da processionária do pinheiro

Os insectos parasitóides caracterizam-se por serem de vida livre na fase adulta, enquanto na fase larvar estão dependentes de um hospedeiro, do qual se alimentam interna ou externamente (Branco *et al.*, 2008). São muitas vezes confundidos com parasitas, mas ao contrário destes últimos, os parasitóides causam a morte do hospedeiro (Rechcigl, 2000).

Reconhecer um hospedeiro parasitado pode ser problemático, contudo, alterações na aparência, cor, tonicidade, desenvolvimento, metabolismo, apetite e reprodução são sinais que o permitem comprovar. Os parasitóides dos ovos são também passíveis de serem reconhecidos por deixarem orifícios de emergência nos ovos (Fig. 3) (Branco *et al.*, 2008).

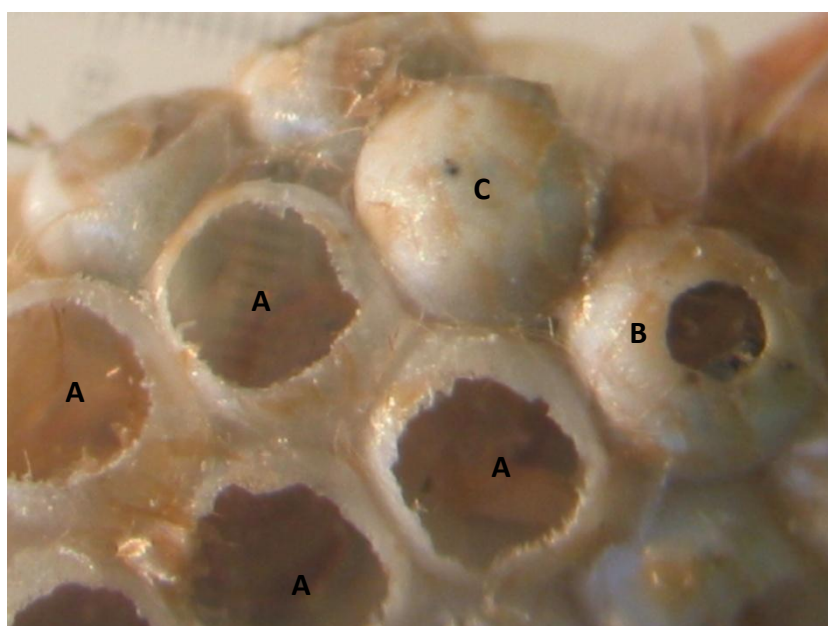


Fig. 3 - Postura de *Thaumetopoea pityocampa* onde é possível observar ovos eclodidos (A), ovos parasitados por parasitóides oófagos (B) e ovo não eclodido (C). Foto do autor.

Segundo Ferreira (1998), o hospedeiro e o parasitóide são aproximadamente do mesmo tamanho, embora o parasitóide possa atacar indivíduos maiores. Os parasitóides estão bem adaptados para encontrar, localizar e parasitar os hospedeiros, possuindo órgãos sensoriais desenvolvidos que lhes permitem detectar os sinais químicos reveladores da sua presença (Branco *et al.*, 2008). Todos os estados de desenvolvimento dos insectos podem ser parasitados (Branco *et al.*, 2008). Em geral, cada parasitóide tem mais do que uma espécie de hospedeiro, embora uma delas possa constituir o hospedeiro principal e as outras suplementares, ou facultativo (Branco *et al.*, 2008). Sendo monófagos se só se alimenta de uma espécie específica ou olífagos se se alimentam de um pequeno número de



espécies. Aqueles que tem na sua alimentação várias espécies são parasitóides polífagos. Dependendo do estado de desenvolvimento do hospedeiro, os parasitóides podem ser classificados como parasitóides oófagos, de larvas ou pupas (Ferreira, 1998).

Os parasitóides podem ser univoltinos, normalmente por adaptação ao ciclo biológico do hospedeiro principal, ou multivoltinos, apresentando várias gerações por ano (Branco, *et al.*, 2008). Os parasitóides, caso ataquem outros parasitóides ou pragas de insectos são classificados respectivamente como hiperparasitóides ou parasitóides primários (Ferreira, 1998).

As principais espécies de parasitóides pertencem às ordens Hymenoptera e Diptera. Estas ordens compreendem famílias de insectos que desempenham um papel muito importante no controlo de pragas florestais. Na ordem Hymenoptera são importantes as espécies das famílias Braconidae, Ichneumonidae, Aphidiidae, Chalcididae, Encyrtidae, Trichogrammatidae, entre outras. Entre os Diptera, são importantes algumas espécies de Bombyliidae e Tachinidae (Ferreira, 1998).

Nas diferentes regiões da Bacia Mediterrânea, onde a processionária do pinheiro assume grande importância económica, os inimigos naturais deste insecto, em particular os parasitóides oófagos desempenham um papel funcional importante nos ecossistemas florestais de resinosas, contribuindo para a redução das densidades populacionais e para a regulação das populações das espécies que poderão ocasionar pragas e consequentemente dos estragos para a planta hospedeira. A eficácia da acção dos parasitóides e a dominância de uns, em detrimento de outros, varia consoante o local e de ano para ano, devido a diversos factores, tais como: a idade do povoamento, a sua situação geográfica (altitude e latitude) e a fase de desenvolvimento do hospedeiro (Tiberi, 1990; Alemany, 1994; Ferreira, 1998; Branco *et al.*, 2008).

Ferreira (2004) e Branco (2008) referem como parasitóides de ovos de processionária em Portugal as espécies: *Anastatus bifasciatus* Fonsc. (Hymenoptera, Eupelmidae), *Ooencyrtus pityocampae* Mercet (Hymenoptera, Encyrtidae), *Baryscapus servadeii* Dom. (Hymenoptera, Eulophidae) e *Trichogramma semblidis* Aur. (Hymenoptera, trichogrammatidae).

Neste trabalho serão abordados os parasitóides oófagos *Ooencyrtus pityocampae* e *Baryscapus servadeii*.

## ***Ooencyrtus pityocampae***

*Ooencyrtus pityocampae* é uma espécie polífaga, que para além da processionária do pinheiro possui outros hospedeiros alternativos (Battisti, 1989; Schmidt, 1990; Tiberi, 1990). Este parasitóide é normalmente solitário e tem reprodução partenogénica (Battisti, 1989; Tiberi, 1990). Segundo Tsankov (1990), Halperin (1990) e Schmidt *et al.* (1997) o sucesso do seu desenvolvimento, ocorre para ovos do hospedeiro em estado de desenvolvimento embrionário pouco avançado. Contudo existem outros autores que defendem que esta espécie parasita ovos de lepidópteros durante toda a fase do desenvolvimento embrionário (Biliotti, 1958; Cabral, 1982) (Fig. 4).



Fig. 4 - *Ooencyrtus pityocampae*, parasitóide oófago da processionária do pinheiro. Foto do autor.

As fêmeas põem os ovos em qualquer região da postura, introduzindo o ovipositor nos ovos do seu hospedeiro através das escamas protectoras. A oviposição ocorre sobretudo durante as horas de calor (Tsankov, 1990). Em condições naturais, o período de oviposição dura uma semana, depositando cada fêmea em média 27 (8-47) ovos (Halperin, 1990).

Segundo Tiberi (1990), quando nenhum outro factor externo interfere, e quando as populações dos parasitóides e do hospedeiro se encontram dentro dos limites do equilíbrio natural, *O. pityocampae* é mais frequente no sector basal das posturas. Este comportamento é determinado por vários factores, sendo a presença de escamas um factor provavelmente importante, por constituírem um obstáculo para o encirtídeo.

*O. pityocampae* emerge duas vezes por ano dos ovos de *T. pityocampa*: uma no final da Primavera, a partir dos ovos parasitados no ano anterior, e outra durante o Verão, das posturas desse mesmo ano (Battisti, 1989; Cabral, 1982). As mesmas conclusões foram encontradas na Grécia por Schmidt (1990). Através de estudos realizados no campo, constatou-se que *O. pityocampae* tem duas gerações, a primeira ocorre em meados de Maio

e a segunda em meados de Agosto. Alguns indivíduos podem permanecer em diapausa até à Primavera do ano seguinte (Schmidt, 1990).

Halperin (1990) observou que, na Natureza, a diapausa ocorre no último estado larvar sendo induzida por temperaturas baixas, mas que a temperatura constante de 24-32°C, o desenvolvimento não é interrompido e as gerações são contínuas.

Em Portugal, Cabral (1982) refere este parasitóide como um dos mais importantes na diminuição das populações da processionária do pinheiro. Na primeira geração que não é quiescente, os adultos emergem um pouco antes da eclosão das larvas da processionária, indo parasitar os ovos desta com os embriões em diferentes fases de desenvolvimento. Os adultos da segunda geração, quiescente, emergem em dois períodos distintos: o primeiro, entre meados de Abril e Junho, com uma população mais elevada, e o segundo entre as últimas quinzenas de Agosto e Outubro, com emergências esporádicas.

Embora *O. pityocampae* tenha fraco poder de voo, é muitas vezes observado a parasitar posturas situadas no topo das árvores a uma altura superior a cinco metros. Na Bulgária, verificou-se uma taxa de parasitoidismo máxima (34.8%) a 3.5 metros de altura (Tsankov, 1990). Estas observações são confirmadas por Tiberi (1984), ao encontrar maiores índices de mortalidade de ovos em posturas situadas entre três e cinco metros de altura.

De acordo com vários autores, temperaturas superiores a 30°C são letais para este parasitóide nas fases imaturas (Mirchev, 1998; Tiberi, 1990).

### ***Baryscapus servadeii***

*B. servadeii* é um parasitóide especialista da processionária do pinheiro (Fig. 5). Battisti (1989) refere que *B. servadeii* parasita apenas *T. pityocampa*, sendo portanto monófago. Esta espécie possui reprodução partenogénica e é um parasitóide solitário. Sendo uma espécie monófaga, implica que o seu ciclo de vida se encontre sincronizado com o de *T. pityocampa* (Tiberi, 1990).



Fig. 5 - Postura de *Thaumetopoea pityocampa* mostrando o parasitóide *Baryscapus servadeii*. Foto do autor.

Tal como *O. pityocampae*, *B. servadeii* também parasita os ovos em diferentes estados de desenvolvimento embrionário (Schmidt *et al.*, 1990). Este insecto possui duas gerações anuais, ocorrendo a primeira no Verão, com duração de quatro semanas. Os adultos nascem um pouco antes da eclosão das larvas do hospedeiro e vão parasitar os ovos deste, com os embriões em diferentes fases de evolução (Tsankov, 1990). A segunda geração aparece na Primavera do ano seguinte, após uma diapausa no estado larvar que pode durar 10 a 11 meses (Battisti, 1989; Halperin, 1990). Porém, o parasitóide pode ter um ciclo de vida anual, emergindo na Primavera, ou bienal, emergindo na Primavera do segundo ano (Halperin, 1990).

A oviposição é efectuada pela fêmea nas horas mais frescas da manhã, em posturas isoladas ou em grupo (Halperin, 1990; Tsankov, 1990). Durante a oviposição, a fêmea levanta lateralmente as escamas da postura do hospedeiro e só depois penetra o ovo com o ovopositor. Desta forma, as escamas não constituem um obstáculo para o parasitóide, ao contrário do que acontece com *O. pityocampae* (Cabral, 1982; Tsankov, 1990).

Segundo Tsankov (1990,1995), a oviposição ocorre imediatamente após a postura da praga, embora os ovos do hospedeiro também sejam parasitados durante estados de desenvolvimento mais avançados. O parasitóide prefere parasitar as partes basal e apical das posturas da processionária do pinheiro (Tsankov, 1995; Mirchev, 1999).

Ensaio realizados em laboratório e no campo não revelaram a existência de hospedeiros alternativos, admitindo-se assim que *B. servadeii* se trata de um parasitóide específico de *T. pityocampa*. O sincronismo que se verifica entre o aparecimento do parasitóide e dos adultos do hospedeiro serve de confirmação a esta suposição (Schmidt, 1990). Cabral (1982) afirma que o sincronismo desta espécie com a postura da processionária está mais ajustado do que o de *O. pityocampae*, verificando-se por isso muito maior índice de parasitismo do que com este último.

Contrariamente a *O. pityocampae*, *B. servadeii* é considerado uma espécie de elevada plasticidade, em relação à temperatura, suportando valores superiores a 30°C, durante o seu desenvolvimento na fase de ovo (Mirchev, 1998; Tiberi, 1990; Schmidt, 1997).

Ensaio levados a cabo em Itália, demonstraram que os parasitóides oófgos mostram preferência por posturas localizadas a diferentes níveis no povoamento, situando-se os níveis de ataque mais elevados entre os três e cinco metros. *B. servadeii* mostra maior actividade em ovos postos entre os dois e cinco metros (Tiberi, 1990).

A percentagem de parasitismo oófago é dependente do tempo de exposição no campo. A probabilidade dos parasitóides encontrarem e parasitarem as posturas aumenta com o tempo de exposição (Bellin *et al.*, 1990). Esta percentagem também depende da espécie de pinheiro, que exerce diferente influência nos parasitóides durante a fase de localização e ataque das posturas, no qual se encontram os ovos de *T. pityocampa*. A maior incidência de parasitóides de ovos foi encontrada em posturas feitas em *Pinus halepensis*, seguido por ordem decrescente, em *P. pinaster*, *P. pinea* e *P. radiata* (Tiberi, 1990).

Estudos feitos em Itália sobre a eficácia de *B. servadeii* e *O. pityocampae* no controlo natural da processionária do pinheiro mostraram que esta, varia com a densidade populacional e as condições do hospedeiro (Battisti, 1989). Na Argélia, *B. servadeii* é o parasitóide mais frequente seguido por *O. pityocampae*. O impacto do parasitoidismo na mortalidade total pode chegar aos 76.1% (Tsankov, 1995). Na Grécia foram também encontradas taxas de parasitismo superiores a 60% para *O. pityocampae* e *B. servadeii* (Schmidt, 1990). Em Portugal, as taxas de parasitoidismo são muito variáveis tendo-se encontrado na região da Península de Setúbal valores de parasitoidismo entre 4 e 27% (Santos *et al.*, 2008).

Tanto os parasitóides como o seu hospedeiro são orientados na selecção de habitat e de alimento por compostos químicos voláteis emitidos pelas plantas ou outros organismos

que lhes servem de informação, designados por isso de semioquímicos. O facto de haver maior incidência de parasitóides de ovos em determinadas espécies do género *Pinus* em detrimento de outras (Tiberi, 1990), é, evidência desta selecção. No próximo ponto aborda-se a natureza e importância destas substâncias.

### **1.3. Semioquímicos e sua relevância nas interações tróficas**

As plantas emitem continuamente voláteis que, dependendo do estado de stress, como é o caso de ataques por parte de insectos fitófagos, se podem alterar na sua composição e quantidade (Dicke *et al.*, 1998). No caso particular das resinosas o mecanismo de defesa mais importante contra estragos causados por insectos fitófagos é a produção de compostos fenólicos produzidos por células do parênquima polifenólico (Trapp & Croteau, 2001) e oleoresinas contendo diversos terpenóides (Mumm & Hilker, 2006). As resinas terpenóides são uma mistura complexa contendo compostos voláteis como monoterpenos, sesquiterpenos e compostos menos voláteis como ácidos resínicos (Mumm & Hilker, 2006). Os terpenóides constituem a maior família de produtos naturais das plantas com mais de 30.000 compostos (Sacchettini & Poulter, 1997; Dewick, 2002). Os terpenóides são classificados de acordo com o número de unidades de isopreno na sua estrutura, em que cada unidade de isopreno contém cinco carbonos; assim temos: hemiterpenos C<sub>5</sub> (uma unidade isopreno), monoterpenos C<sub>10</sub> (duas unidades isopreno), sesquiterpenos C<sub>15</sub> (três unidades isopreno), diterpenos C<sub>20</sub> (quatro unidades isopreno), triterpenos C<sub>30</sub> (seis unidades isopreno), tetraterpenos C<sub>40</sub> (oito unidades isopreno), politerpenos (C<sub>5</sub>)<sub>n</sub> onde “n” pode ser entre 9-30.000 (McGarvey & Croteau 1995). Estes compostos voláteis libertados pelas plantas hospedeiro são libertados em grandes quantidades aquando de ataques por parte de insectos fitófagos, particularmente em árvores com grande percentagem de biomassa foliar (Mumm & Hilker, 2006), produzindo pistas altamente detectáveis por parte dos insectos fitófagos e seus parasitóides. No entanto, a qualidade e quantidade de compostos voláteis induzidos por ataques de fitófagos podem variar dependendo do fitófago envolvido no ataque, a espécie de planta atacada e até do genótipo ao nível intraespecífico (James, 2003). Muitos predadores e parasitóides de insectos fitófagos são também conhecidos por reconhecerem as feromonas específicas emitidas pelos insectos fitófagos, usando-as como caíromonas (substâncias produzidas por organismos, plantas ou animais, que, ao serem identificadas por outras espécies, permitem identificar a sua localização como hospedeiros ou presas, beneficiando assim o organismo que as detecta) (Aukema & Raffa, 2005; Tumlinson, 1988). Por exemplo, muitos predadores de escolitídeos (Coleoptera: Scolytinae) são atraídos pela feromona de agregação emitida pelos machos dos escolitídeos

quando colonizam uma nova árvore hospedeira. Estas feromonas são muitas vezes derivados oxigenados de monoterpenos libertados pelas plantas, ou sintetizadas pelo insecto (Mumm & Hilker, 2006). Muitos insectos fitófagos também usam monoterpenos emitidos pelas plantas hospedeiras como cairomonas, isolados ou em combinação com feromonas de agregação para localizar plantas (Mumm & Hilker, 2006). Na maioria dos casos, os monoterpenos isolados são menos atractivos para predadores do que combinados com feromonas (Mumm & Hilker, 2006).

O composto fenólico Salicilato de Metilo (MeSA) de composição química,  $C_8H_8O_3$  é um dos compostos voláteis emitido pelas plantas quando atacadas por insectos fitófagos que pode actuar como atractivo de insectos benéficos para a planta (James & Price, 2004). O MeSA é um semioquímico, portanto um composto que medeia interacções entre organismos. Este composto é sintetizado a partir do ácido salicílico (SA) pela acção da enzima SA carboxil metiltransferase (SAMT), que pode de novo convertê-lo a ácido salicílico em tecidos específicos da planta (Seskar *et al.*, 1998; Shulaev *et al.*, 1995; Deng *et al.*, 2004). O MeSA parece funcionar como um sinal volátil que vai activar a resposta de resistência e induzir a expressão dos genes de defesa em tecido são de plantas infectadas e em plantas vizinhas não infectadas (Shulaev *et al.*, 1997; Deng *et al.*, 2004). Pode ser encontrado em plantas hortícolas como o tomate, pepino e feijão, na planta do tabaco e em árvores como a *Robinia pseudoacacia*, entre muitas outras plantas

Outros voláteis comuns emitidos por plantas quando atacadas por herbívoros são: o terpeno 3,7-dimetil-1,3,6-octatriene; o terpeno 4,8-dimetil-1,3,7-nonatrieno e o éster Z-3-hexanil acetato (Dicke *et al.*, 1990; Pare & Tumlinson, 1996). Além de ser um atractivo de insectos benéficos para as plantas o MeSA pode ser também repelente de insectos fitófagos tal como afídeos (Hardie *et al.*, 1994; Petterson *et al.*, 1994). No entanto, o MeSA não é universalmente produzido em plantas atacadas por insectos fitófagos, tal como prova a sua ausência nos voláteis libertados por plantas de milho (*Zea mays*) quando atacadas pela lagarta (*Spodoptera exigua* (Hubner)) (Turlings *et al.*, 1990) e nas plantas de feijão manteiga (*Phaseolus lunatus*) atacadas por ácaros (*Tetranychidae*) (Ozawa *et al.*, 2000a).

Estudos laboratoriais mostram que o MeSA atrai predadores dos fitófagos, tal como o ácaro *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae) predador de ácaros tetraniquídeos (Dicke & Sabelis, 1988; Dicke *et al.*, 1990; Ozawa *et al.*, 2000a) e o insecto, *Anthocoris nemoralis* (Hemiptera: Anthocoridae) (Drukker *et al.*, 2000) predador de afídeos e outros insectos. Estudos em vinhas efectuados por James & Price (2004), mostraram um grande aumento em armadilhas iscadas com MeSa de predadores de fitófagos (*Chrysopa nigricornis*, *Hemerobius* sp., *Deraeocoris brevis*, *Stethorus punctum picipes*, *Orius tristicolor*) do que nas armadilhas sem MeSa. Em contraste, estudos olfactivos mostram que o MeSA é repelente

para pragas como os afídeos *Aphis fabae* e *Sitobion avenae* (Hardie *et al.*, 1994; Petterson *et al.*, 1994). Estudos similares levados a cabo no campo, mostram que o MeSA reduziu o número de afídeos *Phorodon humuli* capturados em armadilhas durante o período primaveril de colonização em plantações de lúpulo *Humulus lupulus* L. (Losel *et al.*, 1996). Ninkovic *et al.* (2003) demonstraram que o MeSa atrasou significativamente o estabelecimento e reduziu o número de indivíduos do afídeo *Rhopalosiphum padi* em culturas de aveia tratadas com MeSA.

#### **1.4. Estratégias de controlo**

Vários métodos de controlo têm sido utilizados nas últimas décadas para combater a processionária do pinheiro.

A luta mecânica, principalmente usada em parques jardins ou em árvores isoladas, consiste na destruição mecânica dos ninhos de Inverno através de corte, queima (de preferência em chapa metálica para impedir que as larvas se enterrem) ou até mesmo de tiros de arma de fogo (método em desuso) (Bachiller, *et al.*, 1981; Ferreira, 1992).

Na luta química, recorreu-se inicialmente à utilização de insecticidas de largo espectro, tal como o DDT e a aldrina, organoclorados usadas na década de 60, mas que devido ao seu impacto ambiental entraram em desuso. Em França, foi autorizado em 1988, um produto à base de deltametrina, um piretróide de síntese (Gravaud, 1988). Actualmente, no combate à processionária do pinheiro, usam-se preferencialmente antiquitinas, compostos químicos mais selectivos pois actuam sobre a mudança da cutícula nos insectos, entre os insecticidas mais usados nesta categoria estão aqueles cuja substância activa é o diflubenzurão. Na luta química, são também muito utilizadas preparações de *Bacillus thuringiensis* aplicadas por meios aéreos. A sua ingestão, por acção da  $\beta$ -endotoxina, provoca a destruição do epitélio intestinal e morte rápida das larvas (Cabral & Heitor, 1969). Os tratamentos feitos com estas preparações actuam sobre as larvas desde o primeiro até ao terceiro instar (Ferreira, 1992).

Porém, os métodos químicos com insecticidas podem não ser suficientemente eficazes para controlar este desfolhador. Para ser eficaz a aplicação tem de ser feita atempadamente, antes das larvas atingirem o 3º instar, exigindo frequentemente meios aéreos, o que é inviável em parques urbanos e peri-urbanos. Por outro lado, a aplicação de insecticidas, mesmo sendo selectivos, pode causar impactos ecológicos significativos sobre a fauna não alvo e induzir o desenvolvimento de resistências nomeadamente nas populações sujeitas a aplicações frequentes (Ferreira, 2004).



Na luta biotécnica, a síntese da feromona sexual para a processionária (pityolure) permite a utilização de armadilhas iscadas com feromona para captura de machos (Ferreira, 1992). Ferreira (1992) recomenda colocar-se uma armadilha por hectare, estas servem essencialmente à monitorização dos machos, uma vez que não permitem a captura de fêmeas.

Na luta biológica, pode fomentar-se as populações dos principais antagonistas naturais da processionária do pinheiro, tais como: parasitóides de ovos (*Ooencyrtus pityocampa* e *Baryscapus servadeii*); parasitóides de larvas e pupas (*Phryxe caudata* (Diptera, Tachinidae), *Anomalon latro* (Hymenoptera, Ichneumonidae), *Compsilura concinata* (Diptera, Tachinidae), *Ichneumon rudis* Fonsc. (Hymenoptera, Ichneumonidae)); predadores (*Xantandrus contus* (Diptera, Syrphidae), *Barbitiste fischeri* (Orthoptera, Phasgonuridae)). Entre as aves, as poupas (*Upupa epops*), as pegas rabudas (*Pica pica*), os corvos (*Corvus* spp.) e os chapins (*Parus* sp.) (Ferreira & Cabral, 1999; Barbaro *et al.* 2007).

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Local de estudo

O local de estudo consistiu num povoamento de *Pinus pinea* L., com cerca de dez anos de idade, denominado Pinhal das Freiras, situado na Península de Setúbal (Fig.7). Este povoamento foi escolhido pela elevada densidade de ninhos de procecionária do pinheiro observados em anos anteriores com uma média superior a um ninho por árvore, algumas árvores foram observadas com mais de dez ninhos (Branco, comentário pessoal). Consequentemente, as desfolhas observadas são intensas, muitas árvores apresentam agulhas muito curtas e copa rarefeita (Fig. 6) e até à data sem produção de fruto rentabilizada.

O clima da região da Península de Setúbal é Atlântico de transição com Verões moderados e Invernos tépidos (Alves *et al.*, 1998). Os solos dominantes são essencialmente regossolos psamíticos; podzóis com e sem surraipa (Cardoso *et al.*, 1973; IA, 2003). Sendo estes solos relativamente pobres e com baixa capacidade de retenção da água, as árvores encontram-se sob algum stress hídrico, o que pode justificar a sua predisposição à herbívoría por parte de insectos fitófagos.



Fig. 6. Pinheiros mansos, *Pinus pinea*, enfraquecidos por ataques intensos e sucessivos da procecionária do pinheiro, Pinhal das Freiras, Península de Setúbal, 2008. Foto do autor.

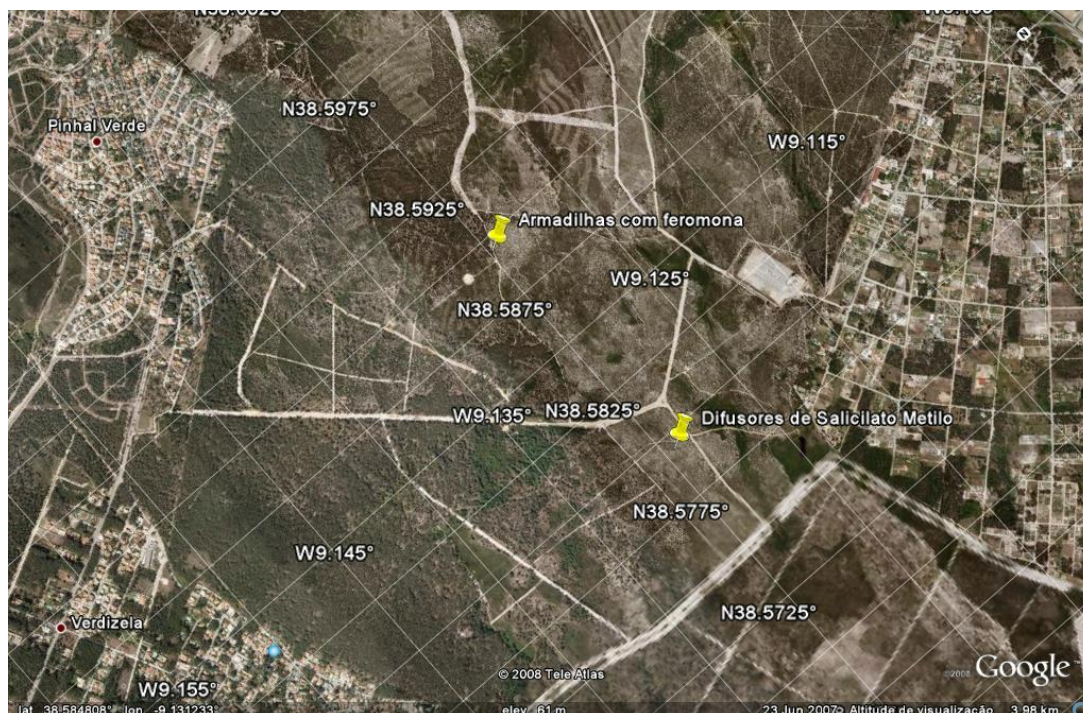


Fig. 7 - Localização geográfica da área de estudo, Pinhal das Freiras, Conselho de Setúbal. Os pontos evidenciam os locais dos ensaios realizados.

## 2.2. Delineamento dos ensaios de campo

Os ensaios de campo realizados foram definidos tendo em conta os seguintes objectivos específicos:

- a) Efeito do Salicilato de Metilo (MeSa), segundo doses crescentes, na atracção/repulsão das fêmeas de *T. pityocampa* para oviposição;
- b) Taxas de parasitismo e efeito do Salicilato de Metilo (MeSa) na atracção/repulsão dos parasitóides oófagos da processionária do pinheiro;
- c) Efeito do Salicilato de Metilo (MeSa) na atracção/repulsão de machos da processionária do pinheiro;
- d) Monitorização de machos da processionária do pinheiro em armadilhas de feromona sexual para determinar o período de voo.

Com estes objectivos específicos foram instalados no Verão de 2008, dois ensaios de campo. A colocação das armadilhas e a recolha das posturas foram efectuadas maioritariamente perto de aceiros e arrifes que integram a rede divisional.

## Ensaio 1: Monitorização de posturas, ninhos e parasitóidismo

Para a instalação dos difusores de Salicilato de Metilo seleccionou-se como unidade de amostragem uma fracção de orla de povoamento de pinheiro manso com três linhas de largura, cerca de dez metros por 40 metros de comprimento. Cada unidade foi separada da unidade seguinte por dez metros. Os difusores, constituídos por um tubo de polipropileno com capacidade de 5ml foram instalados nos troncos das árvores centrais das unidades de amostragem, ficando separados entre si por 50 metros (Fig. 8 e 9). Foram testadas três doses, 5, 25 e 50 ml, de Salicilato de Metilo (MeSa), utilizando-se para tal, respectivamente, um, cinco e dez difusores, e um controlo, zero, sem MeSa. Este esquema foi repetido em dez blocos, i.e., dez orlas. Uma tiragem aleatória foi efectuada para determinar a ordem das doses ao longo de cada orla. O período de exposição de MeSa nas árvores decorreu entre fim de Julho a meados de Setembro de 2008. Em Outubro e Novembro procedeu-se à contagem de posturas e de ninhos em árvores seleccionadas para o efeito.

Para o estudo do parasitóidismo oófago foram efectuadas colheitas de posturas em árvores submetidas a diferentes tratamentos e colocadas individualmente em tubos de ensaio, devidamente identificadas e fechadas com rolha de algodão, para observação em laboratório.

Para o estudo da densidade dos ninhos foram amostradas todas as árvores situadas a 20 metros para a esquerda e 20 metros para a direita da árvore central em três linhas consecutivas.

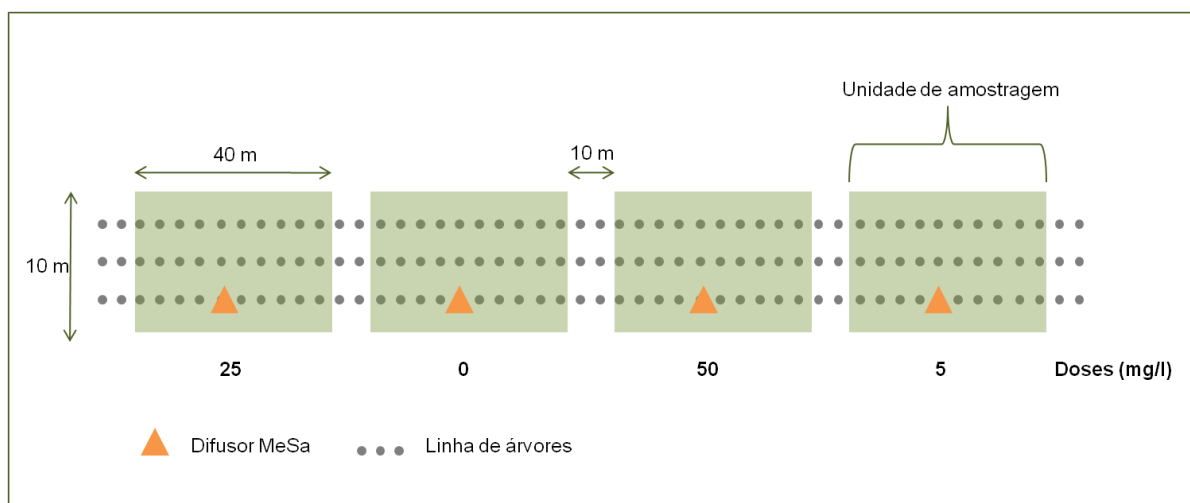


Fig. 8 - Representação esquemática das unidades de amostragem.



Fig. 9 - Pormenor do difusor de Salicilato de Metilo (MeSA).

## **Ensaio 2: Monitorização de machos da processionária do pinheiro em armadilhas de feromona sexual**

O efeito do Salicilato de Metilo (MeSa) sobre os machos adultos da processionária do pinheiro foi testado estimando-se o número de capturas em armadilhas de feromona na vizinhança ou não de árvores com difusores de MeSa.

A unidade de amostragem foi constituída por um difusor de MeSa colocado na árvore central, e três armadilhas tipo funil, com cola no seu interior (30 cm x 30 cm) equipadas com um difusor de feromona doseado a 0, 5, 25, 50 ml (Fig. 10). Estas armadilhas foram colocadas, respectivamente, uma adjacente ao difusor de MeSa (a 50 cm), uma a dez metros à esquerda e outra a dez metros à direita do difusor de forma a testar um efeito de distância ao difusor (Fig.11). Seguindo uma orla de floresta, instalou-se este dispositivo, quatro vezes, de acordo com as quatro doses acima indicadas. Cada dispositivo distanciava 50 metros do seguinte. O mesmo esquema foi repetido em duas orlas, aleatorizando-se a ordem das doses, no total instalou-se, quatro doses por duas orlas com três armadilhas cada, totalizando 24 armadilhas.





Fig. 10 - Armadilha funil com feromona para monitorização de machos de processionária de pinheiro. Foto do autor.

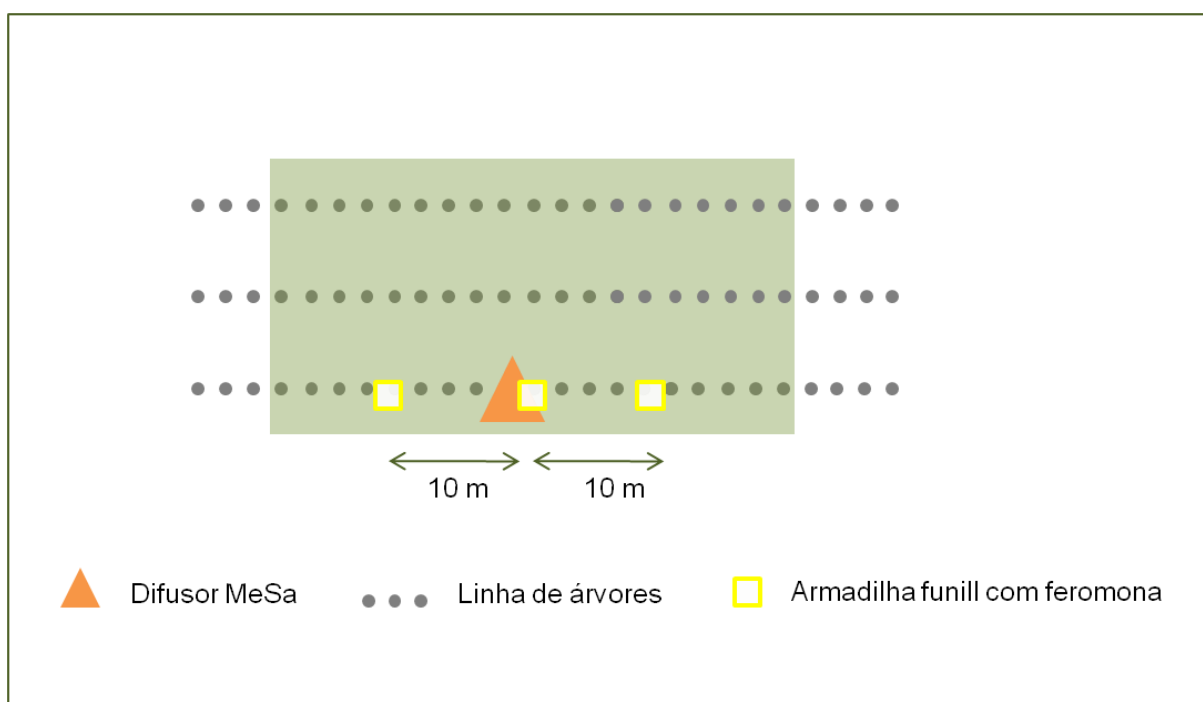


Fig. 11 - Representação esquemática da unidade de amostragem de monitorização de machos de processionária de pinheiro em armadilhas de feromona.

A captura de machos foi realizada semanalmente, sempre que possível, entre meados de Agosto e meados de Setembro de 2008.

## **2.3. Estudos de laboratório**

### **2.3.1. Fecundidade das fêmeas**

Para o estudo da fecundidade das fêmeas foram usadas posturas recolhidas em Setembro de 2007 e 2008. Estas, foram mantidas à temperatura ambiente no laboratório de Entomologia do Centro de Estudos Florestais (CEF) do Instituto Superior de Agronomia. Foram analisadas em laboratório, sendo retiradas as escamas que cobriam os ovos. De seguida, foi contabilizado o número de ovos eclodidos, não eclodidos e parasitados.

Determinou-se a taxa de mortalidade dos ovos da processionária do pinheiro, como sendo o conjunto do número de ovos não eclodidos e o número de ovos parasitados, sobre o número total de ovos contabilizados.

### **2.3.2. Taxas de parasitismo e monitorização da emergência dos parasitóides**

Para o estudo das taxas de parasitismo foram recolhidas posturas entre Setembro e Dezembro de 2008. Foram monitorizadas regularmente para detectar a presença de parasitóides oófagos da processionária, tendo os parasitóides sido recolhidos com a ajuda de uma pinça e pincel e guardados em tubos de *Eppendorf* com álcool etílico diluído a 70%. Todos os parasitóides foram identificados com ajuda de uma lupa binocular e exemplares de referência, quantificados e separados por espécie e data de recolha, tendo sido para isso utilizadas pinças de relojoeiro, uma placa de petri e álcool a 70%.

Para estimar a taxa de parasitoidismo procedeu-se à razão entre o número de ovos parasitados e o número total de ovos.

## **2.4. Análise dos dados**

Os dados foram analisados e processados através de tabelas dinâmicas em folha de calculo do Excel (Microsoft Office 2003 & 2007).

Para o tratamento estatístico dos dados recorreu-se ao software *SPSS 16 for Windows*. As diferenças entre médias para os diferentes níveis do factor foram testadas usando análise de variância a um factor (Anova one-way) depois de verificados os pressupostos de normalidade das variâncias amostrais, através do Teste Kolmogorov-Smirnov. No caso de não se verificar o pressuposto da normalidade da amostra, procedeu-se à análise das diferenças entre médias através do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Monitorização dos machos

##### 3.1.1. Curva de voo

Durante o período observado o número médio por semana de capturas de machos de processionária do pinheiro em armadilhas de feromona foi de  $10.6 \pm 11.1$ ,  $n=144$ . No entanto as capturas semanais variaram durante este período, de acordo com uma curva de voo dos machos unimodal, que atingiu valores máximos (pico de voo) em meados de Agosto (Fig. 12). Em meados de Setembro muitas das armadilhas já não apresentavam capturas, sendo a média de machos por armadilha de  $1.9 \pm 2.5$  (Fig. 12), pelo que se decidiu terminar a monitorização nesta data.

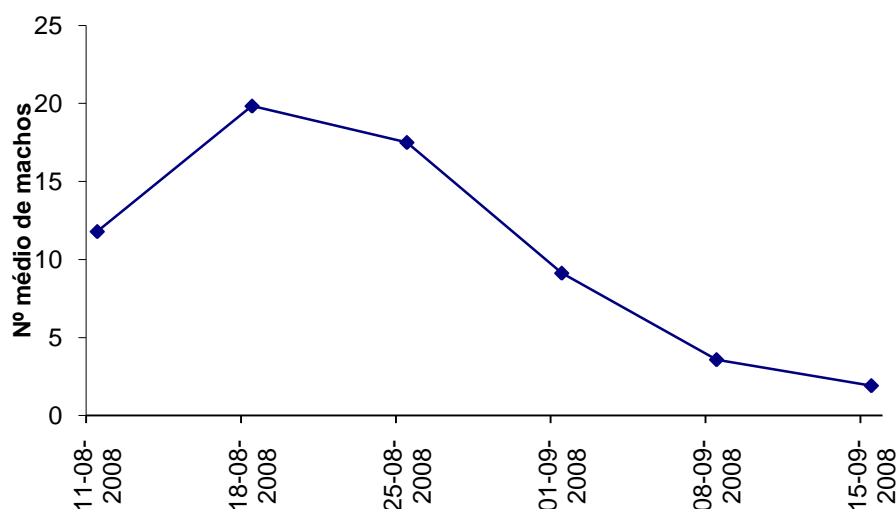


Fig. 12 - Curva de voo dos machos de processionária de pinheiro *Thaumetopoea pityocampa* em armadilhas de feromona.

##### 3.1.2. Comparação entre tratamentos

O número médio de capturas de machos de processionária do pinheiro em armadilhas de feromona variou de acordo com a dose, sendo menor no controlo e na dose de 5 ml de MeSa, e maior nas doses de 25 e 50 ml de MeSa (Fig. 13). No entanto, as diferenças entre doses não foram significativas de acordo com o teste ANOVA ( $F= 0.324$ , g.l.= 3,20,  $p = 0,81$ ).



Por outro lado, o padrão das capturas em função das doses não é consistente para os três posicionamentos das armadilhas, em particular devido às capturas muito superiores à média observadas na dose de 25 ml nas armadilhas da direita que indiciam um fenómeno de concentração local de machos (Fig. 13). Para contornar o efeito da variabilidade local da abundância de machos estimou-se para cada local a diferença de capturas de machos na armadilha central, localizada próxima do difusor de MeSa, relativamente à média das três armadilhas no mesmo local (Fig. 14). Nos pontos de amostragem com MeSA observou-se um efeito negativo, expresso por um menor número de capturas na armadilha central comparativamente às duas armadilhas laterais, distanciadas de 10 m à esquerda e à direita, respectivamente. Pelo contrário, nas unidades de controlo (dose 0), as capturas na armadilha central foram superiores às capturas nas armadilhas laterais (Fig. 15). Quando comparados pontos com MeSA (independentemente da dose) com o controlo, não se verifica diferenças significativas ( $F = 0,08$  g.l. = 1, 22,  $p = 0,77$ ).

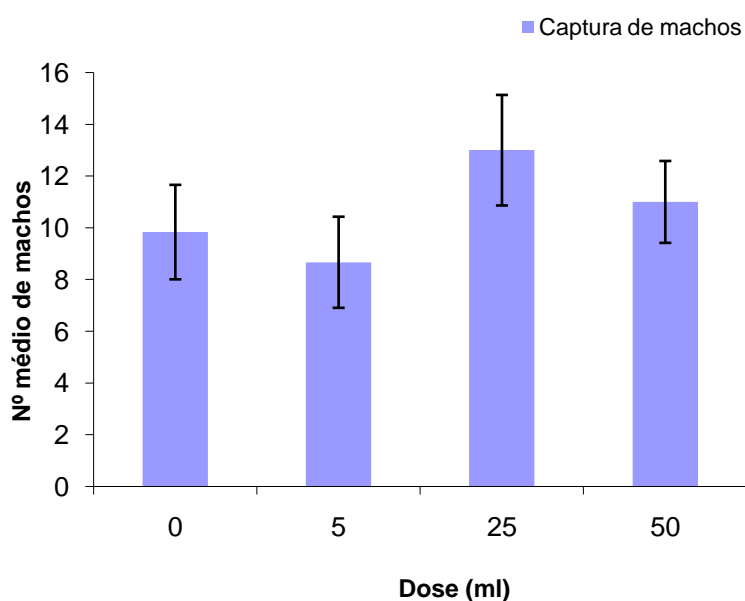


Fig. 13 - Valor médio e erro padrão do número médio de machos de processionária de pinheiro capturados no conjunto das três armadilhas (centro, esquerda e direita), consoante a dose.

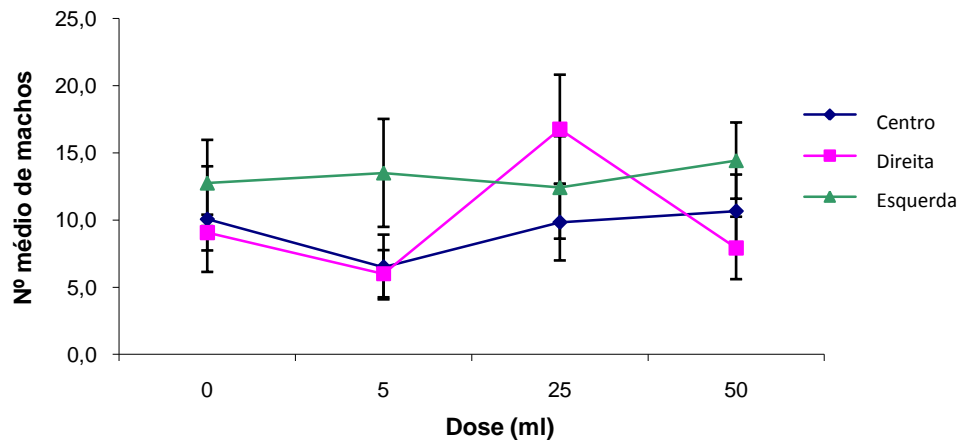


Fig. 14 - Valor médio e erro padrão do número médio de machos de processionária de pinheiro capturados nas três armadilhas em cada posição (centro, esquerda e direita), consoante a dose.

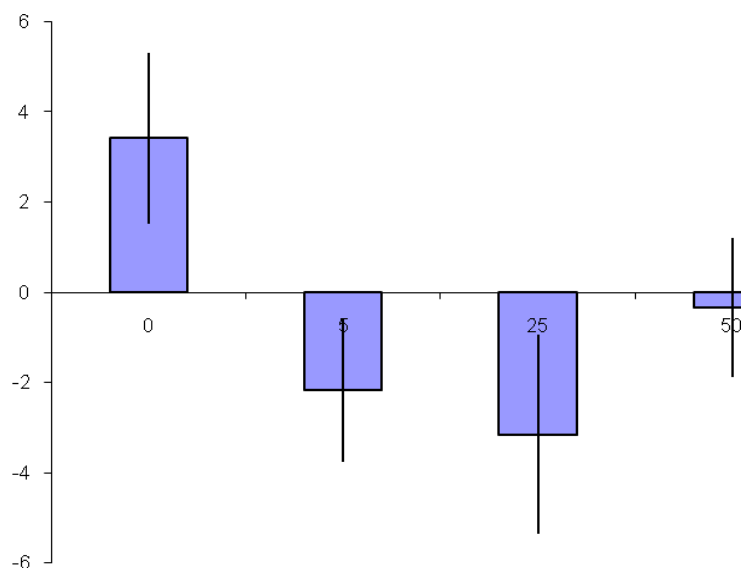


Fig. 15 - Valor médio e erro padrão do desvio médio de machos de processionária de pinheiro capturados na árvore central em relação às outras posições (esquerda e direita), consoante a dose.

### 3.2. Oviposição

Ao todo, foram recolhidas, em Setembro de 2007, 262 posturas. O número médio de ovos por postura foi de  $142.2 \pm 41.7$ , observando-se um número médio de ovos eclodidos bastante superior ao de não eclodidos e parasitados (Fig. 16).

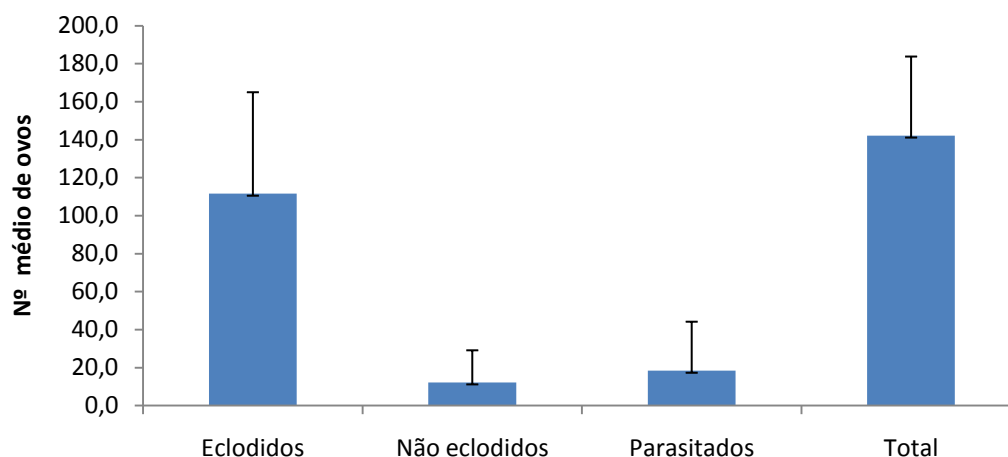


Fig. 16 - Valor médio e desvio padrão do número de ovos eclodidos, não eclodidos, parasitados e seu total no conjunto das posturas recolhidas em Setembro de 2007.

Os valores percentuais estão em concordância com os resultados anteriores, com uma percentagem de ovos eclodidos muito superior à percentagem de não eclodidos e parasitados. (Fig. 17). Verificou-se uma taxa de mortalidade de 21.3% (Fig. 17).

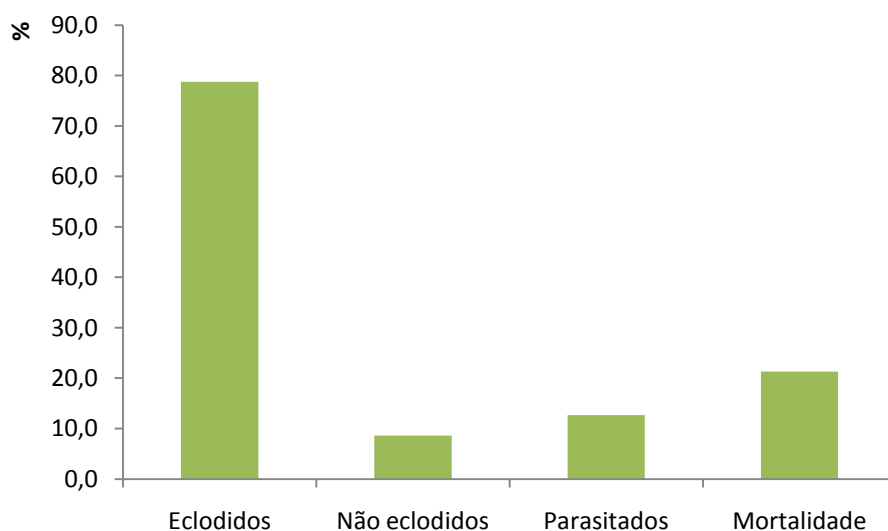


Fig. 17 - Percentagem de ovos eclodidos, não eclodidos, parasitados no conjunto das posturas recolhidas em Setembro de 2007 e respectiva taxa de mortalidade.

### 3.3. Parasitóides e curvas de emergência

Das posturas analisadas, emergiram em laboratório um total de 12 816 parasitóides, dos quais, 936 corresponderam a *O. pityocampae* e 11 880 a *B. servadeii* (Quadro 2).

No total de ovos parasitados, a percentagem de parasitismo foi no caso de *O. pityocampae* muito inferior à de *B. servadeii* (Fig. 18).

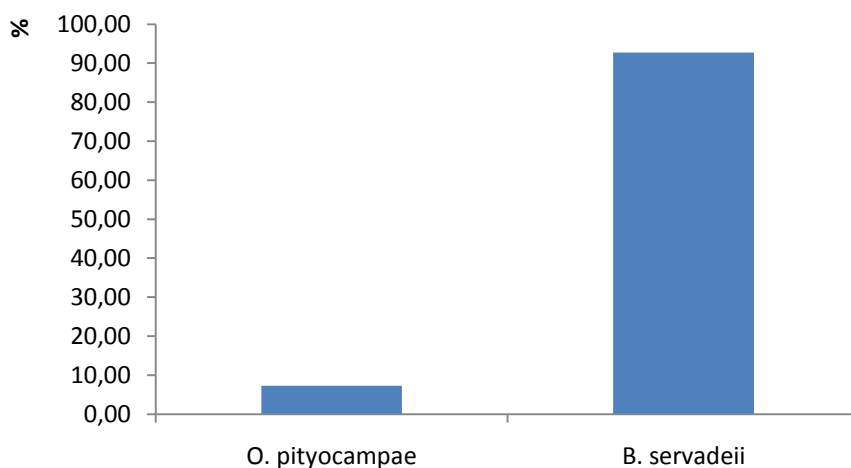


Fig. 18 - Percentagem de parasitismo, por espécie, das posturas recolhidas em 2008.

Como indicado anteriormente, observou-se dois períodos de emergência dos parasitóides, um no Outono, alguns dias a poucas semanas após a recolha das posturas (Fig. 19) e outro na Primavera / Verão, após um período de diapausa dos parasitóides de cinco a dez meses (Fig. 20).

No Outono, o pico de emergência em laboratório de *O. pityocampae*, com 552 indivíduos emergidos de posturas recolhidas em Setembro de 2008, ocorreu em Outubro. O mesmo foi observado em relação a *B. servadeii*, cujo pico de emergências, com 6425 indivíduos, referente a posturas recolhidas no mês de Outubro de 2008, foi registado nas semanas de 1 a 22 de Outubro (Fig. 19).

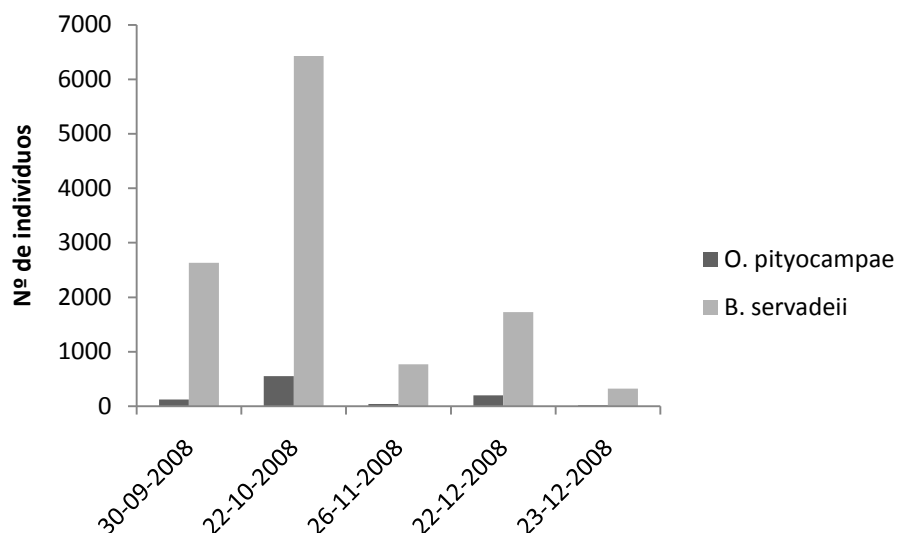


Fig. 19 - Emergência em laboratório dos parasitóides sem diapausa, *Ooencyrtus pityocampae* e *Baryscapus servadeii*, das posturas recolhidas em Setembro e Outubro de 2008.

O período de emergência *O. pityocampae* após diapausa teve início em Abril e prolongou-se até Julho, enquanto que *B. servadeii* registou emergências de Maio a Setembro, com um pico em Julho. Neste mês registou-se o maior número de emergências para *B. servadeii*, com 8055 indivíduos recolhidos, enquanto que para *O. pityocampae* o pico de emergências foi em Abril com 376 indivíduos recolhidos em laboratório (Fig. 20).

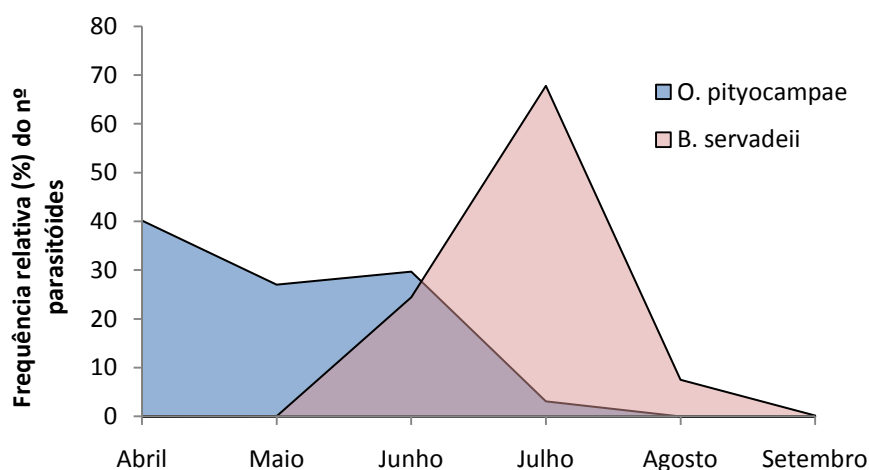


Fig. 20 - Distribuição mensal de frequências relativas (%) dos parasitóides emergidos.

### 3.4. Resposta dos parasitóides ao MeSa

O número médio total de ovos por postura foi semelhante nos dois tratamentos, no caso do tratamento com MeSa foi de  $139.9 \pm 43.8$  e no controlo foi de  $145.5 \pm 38.5$  (Fig. 21). O número total de ovos parasitados no controlo e no tratamento foram também muito semelhantes (Fig. 21) não existindo diferenças significativas entre tratamentos, segundo o teste não paramétrico de *Kruskal-Wallis* ( $p=0.52$ ; Anexo 4).

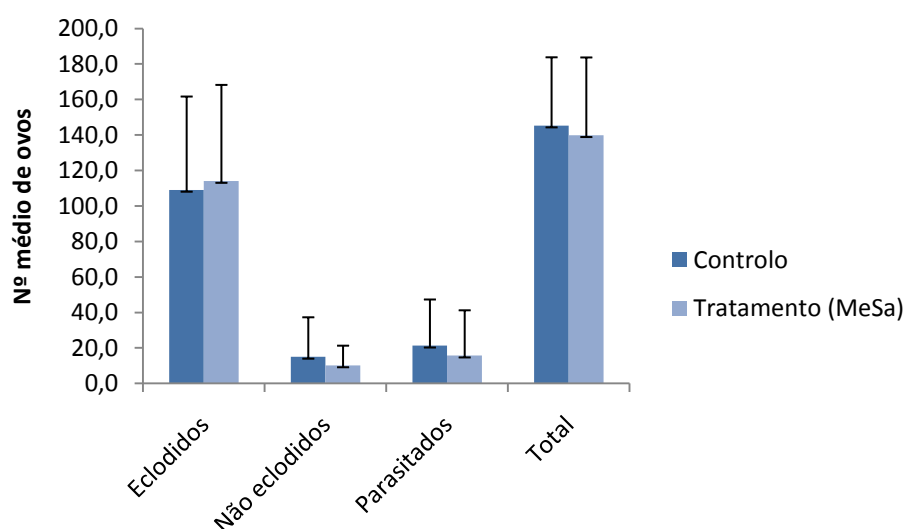


Fig. 21 - Comparação do valor médio e desvio padrão do número de ovos eclodidos, não eclodidos, parasitados e seu total das posturas recolhidas em Setembro de 2007, com e sem tratamento (MeSa).

No total das posturas recolhidas a percentagem de parasitismo e taxas de mortalidade foram ligeiramente superiores no controlo (14.6% e 25.0%, respectivamente) que no tratamento com MeSa (11.2% e 18.50%, respectivamente) (Fig 22).

Observa-se um maior número de indivíduos de *O. pityocampae* e *B. servadeii* para doses intermédias de Salicilato de metilo, de 5 e 25 ml, voltando a decrescer para a dose de MeSa mais elevada de 50 ml (Quadro 2, Fig. 23).

Quadro 2 - Número de indivíduos de *Ooencyrtus pityocampae* e *Baryscapus servadeii* segundo doses crescentes de Salicilato de metilo (MeSa)

Dose de MeSa		0	5	25	50	Total
Parasitóides	<i>O. pityocampae</i>	220	294	278	144	936
	<i>B. servadeii</i>	2845	3546	3351	2138	11880
Nº total de indivíduos		3065	3840	3629	2282	12816

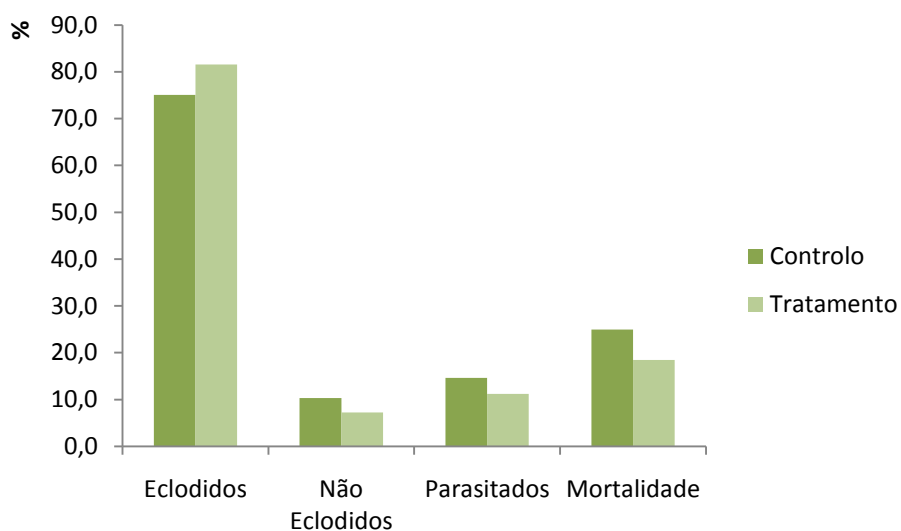


Fig. 22 - Percentagem de ovos eclodidos, não eclodidos, parasitados no conjunto das posturas recolhidas em Setembro de 2007 e respectiva taxa de mortalidade com e sem tratamento MeSa.

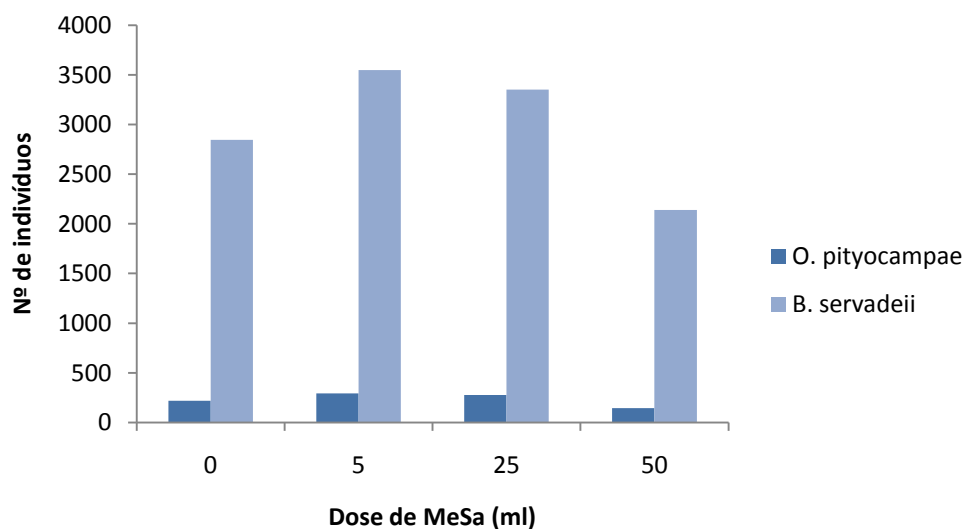


Fig. 23 - Número total de indivíduos de *Ooencyrtus pityocampae* e *Baryscapus servadeii* que emergiram das posturas segundo doses crescentes de Salicilato de metilo (MeSa).

Regista-se que na comparação entre árvores com e sem tratamento e por postura as emergências são similares tanto para *O. pityocampae* como para *B. servadeii* (Fig. 24).

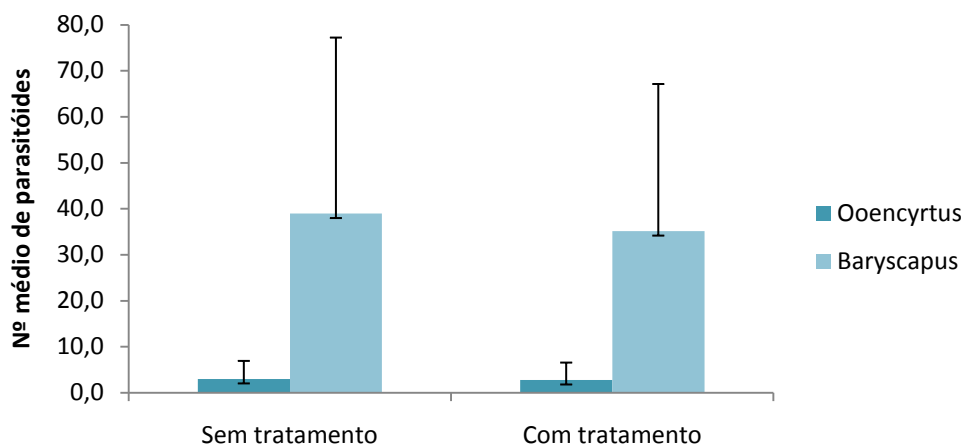


Fig. 24 - Número médio de parasitóides emergidos com e sem MeSa.

### 3.5. Resposta das fêmeas grávidas ao MeSa

Considerando em cada fila, árvores amostradas tratadas e não tratadas, de acordo com os resultados não se verificou um efeito repulsivo do MeSa nas fêmeas grávidas uma vez que o número médio de ninhos aumentou com a dose até 25 ml (Fig. 25). Pelo contrário, parece haver um efeito de atracção paras as doses 5 e 25ml, em que o número de posturas foi superior ao das árvores não tratadas e de controlo, apesar destas não serem significativas, segundo o teste não paramétrico de *Kruskal-Wallis* ( $p=0.19$ ; Anexo 5). Todavia, este efeito atractivo não se verificou na dose de 50 ml, observando-se um número médio de ninhos idêntico às árvores não tratadas.

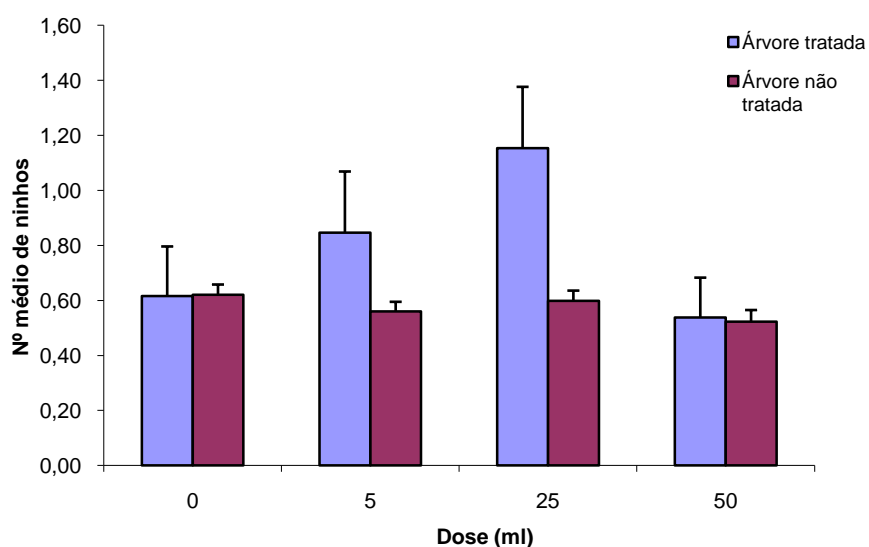


Fig. 25 – Número médio de ninhos por árvore com e sem MeSa, em função da dose.



#### 4. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

O Salicilato de metilo (MeSa) é um dos compostos voláteis emitido pelas plantas quando atacadas por insectos fitófagos que tem o potencial em muitos casos de estudo observados de aumentar o número de inimigos naturais e reduzir o número de pragas (James & Price, 2004; Hardie *et al.*, 1994; Petterson *et al.*, 1994; Dicke & Sabelis, 1988; Dicke *et al.*, 1990; Ozawa *et al.*, 2000a; Drukker *et al.*, 2000).

No presente trabalho, no caso do seu efeito sobre os machos de processionária do pinheiro, verificou-se um ligeiro efeito repulsivo (Fig. 13), consistente com observações de outros insectos fitófagos para os quais o MeSa teve um efeito repulsivo (Hardie *et al.*, 1994; Petterson *et al.*, 1994; Losel *et al.*, 1996). Nas árvores sujeitas a tratamento com MeSa, os machos desviam-se para a emissão mais próxima de feromona, isto é, armadilhas laterais, o que não se verificou nas árvores controlo. Na estimativa média de capturas, no entanto, este efeito repulsivo do MeSa é ocultado pelo efeito atractivo da feromona, que se revela assim ter um efeito muito mais forte sobre os machos. Este resultado não é surpreendente se admitirmos que a resposta a uma fêmea a emitir feromona deverá se sobrepor no macho a quaisquer outros estímulos, incluindo a selecção do habitat, de modo a otimizar a sua possibilidade de reprodução.

O período de voo dos machos da processionária foi compreendido entre Agosto e Setembro, com um pico entre meados a finais de Agosto, o que vai de encontro ao observado na Grécia, por Athanassiou *et al.*, (2006). Já no Norte de Portugal, o período de voo ocorre mais cedo, a partir de meados de Julho (Arnaldo, 2003), como em geral acontece nas regiões mais frias a maior altitude ou latitude (Démolin, 1969).

O número médio de ninhos aumentou com a dose até 25 ml, o que mostra que não existiu um efeito repulsivo do MeSa nas fêmeas grávidas. Pelo contrário, nas doses de 5 e 25 ml constatou-se um efeito atractivo já que o número de posturas foi claramente superior ao das árvores não tratadas e de controlo. Contudo, este efeito de atracção não se verificou para o tratamento com maior dose de MeSa, 50 ml, observando-se um número médio de ninhos idêntico às árvores não tratadas. Poderá apontar-se um efeito de dose, onde doses maiores de MeSa apresentam um efeito contrário sobre os fitófagos (Khan *et al.*, 2008).

O número médio de ovos por postura do presente estudo ( $142.2 \pm 41.7$ ) revela uma relativa baixa fecundidade das fêmeas para o local de estudo já que o valor foi inferior ao encontrado em Itália (Masutti & Battisti, 1990), Grécia (Schmidt, 1990), Espanha (Balears) (Alemany *et al.*, 1994), Bulgária (Tsankov *et al.*, 1990), Albânia (Mirchev, 1999), Grécia (Ilha de Hydra) (Schmidt *et al.*, 1997b), Marrocos (Montanhas do Atlas) (Schmidt *et al.*, 1997), Península Ibérica (Schmidt *et al.*, 1999) e Portugal (Centro e Sul) (Neves, 2000; Pimentel,

2000); foi similar ao registado na Argélia, por Tsankov *et al.* (1995) e em Portugal (Cabral, 1982; Arnaldo, 1997; Ferreira, 2004), sendo apenas encontrados valores inferiores por Severino (2003), em Portugal (Quadro 3). Esta baixa fecundidade das fêmeas poderá ter origem no reduzido valor nutritivo do alimento tendo em conta que os pinheiros na zona de estudo se encontram enfraquecidos por desfolhas sucessivas de vários anos, apresentando muitas árvores agulhas visivelmente mais pequenas e, muito provavelmente, com composição química desfavorável aos insectos herbívoros, como documentado por vários estudos sobre a composição das agulhas após desfolha.

O número médio de ovos por postura foi semelhante nos dois tratamentos,  $139.9 \pm 43.8$  no caso do tratamento com MeSa e de  $145.5 \pm 38.5$  no controlo. Estes valores são inferiores aos encontrados noutros países, o que significa uma menor fecundidade das fêmeas para as populações existentes em Portugal, mas que se aproximam do valor médio encontrado para as populações do Norte da Argélia por Tsankov (1995). Em contrapartida, a taxa de eclosão das larvas, foi elevada, e a mortalidade necessariamente baixa, de 21.3%, podendo apenas ser comparada com os valores obtidos por Neves (2000) para a região Centro e Sul de Portugal, por Alemany *et al.* (1994) nas ilhas Baleares e em Marrocos (Schmidt *et al.*, 1997).

**Quadro 3 - Comparação dos valores médios de nº de ovos por postura, desvio padrão, intervalo de valores encontrado e percentagem de eclosão, encontrados no presente estudo, com valores encontrados por outros autores em Portugal e noutros países**

Local	Nº de ovos	% Eclosão	Referência
Itália	210-280	-	Masutti & Battisti, 1990
Grécia	208±65; 93-349	68.5	Schmidt, 1990
Espanha (Baleares)	203 e 213	81.7-85.7	Alemany <i>et al.</i> , 1994
Argélia	154; 125-245	55.8	Tsankov <i>et al.</i> , 1995
Bulgária	203-253; 51-315	20.3-65.3	Tsankov <i>et al.</i> , 1996
Grécia (Ilha de Hydra)	180; 107-227	50.0	Schmidt <i>et al.</i> , 1997
Península Ibérica, zonas montanhosas	202±61 - 254±30	47.3-79.7	Schmidt <i>et al.</i> , 1999
Portugal, Centro e Sul do país	135±8 - 173±11	50.4-87.5	Cabral, 1982
Portugal – Trás-os-Montes	159±38	52.9-71.8	Arnaldo, 1997
Portugal, Centro e Sul do país	181.5±34; 65-268	81.3	Neves, 2000
Portugal, Centro e Sul do país	184±30; 120-240	89.1	Pimentel, 2000
Portugal, Centro e Sul do país	120±7.54 - 171±6.36	66.7-97.2	Severino, 2003
Portugal, Centro e Sul do país	143±5.74 - 211±10.9	77.7-93.5	Ferreira, 2004
Portugal, península de Setúbal	142.2±41.7	75.1–81.5	Presente estudo

Das posturas analisadas do povoamento em estudo, foram identificados dois parasitóides oófagos: *B. servadeii* Dom. (Himenoptera, Eulophidae), e *Ooencyrtus pityocampae* Mercet (Himenoptera, Encyrtidae).

O parasitóide que emergiu em maior percentagem foi *B. servadeii* com cerca de 90%, indo ao encontro do observado em Portugal na região de Trás-os-Montes (Arnaldo, 2003), idêntico ao que foi observado em Israel (Halperin, 1990), Grécia (Bellin *et al.*, 1990), Argélia (Tsankov *et al.*, 1995) e Marrocos (Schmidt *et al.*, 1997). Em contraste, Tiberi (1990) e Tsankov (1996) registaram percentagens mais elevadas para *O. pityocampae*, respectivamente, em Itália e Bulgária. De igual modo, outros estudos realizados em Portugal, evidenciam que as duas espécies de parasitóides com maior impacte na mortalidade dos ovos de *T. pityocampae* são *O. pityocampae* e *B. servadeii* (Cabral, 1982; Arnaldo, 1997; Arnaldo, 2003). *B. servadeii* e *O. pityocampae* emergiram no ano da postura do hospedeiro e no ano a seguir após uma diapausa como larva completamente desenvolvida tal como documentado noutros trabalhos (Battisti, 1989; Tsankov *et al.*, 1995; Schmidt *et al.*, 1999).

Foi possível verificar, a existência de dois períodos de emergências bem distintos: o primeiro no ano de oviposição e que corresponde à primeira geração dos parasitóides, e o segundo depois da diapausa larvar, no ano seguinte e que corresponde à segunda geração. No caso de *B. servadeii*, por norma é constatado por diversos autores que a segunda geração ocorre entre Junho e Agosto (Triggiani *et al.*, 1993; Tsankov *et al.*, 1995; Schmidt *et al.*, 1999), constatando-se neste estudo que a referida segunda geração se prolongou de Maio a Setembro, com Julho a ser o mês que registou maior número de emergências. Os meses de Julho e Agosto coincidem com os meses de postura dos ovos da processionária do pinheiro, o que mostra que o parasitóide se encontra sincronizado com o hospedeiro. Por outro lado, o período global de emergência engloba igualmente os meses de Maio e Junho, que não coincidem com o período de postura da processionária do pinheiro, o que leva a supor que *B. servadeii* poderá possuir hospedeiros alternativos que lhe permitem sobreviver até ao período de postura da processionária. Schmidt *et al.* (1997), nas montanhas do Atlas, afirma que os ovos de *T. bonjeani* permitem que o parasitóide emergido na Primavera, sobreviva até à próxima geração de *T. pityocampa*. Também nos dados de Arnaldo (2003), este parasitóide apresentou durante anos consecutivos um pico de emergência em Maio. Todavia, a hipótese da existência de hospedeiros alternativos é contrária aos resultados obtidos por Schmidt (1990) que através de ensaios laboratoriais e no campo, admite que *B. servadeii* é específico de *T. pityocampa*, devido ao sincronismo que se verifica entre a espécie e os adultos do hospedeiro.

Os imagos de *O. pityocampae* tiveram um pico de emergências em Abril, prematura em relação ao observado por Schmidt *et al.* (1999) em diversas regiões da Península Ibérica, na Bulgária (Tsankov *et al.*, 1996) e na região de Trás-os-Montes por Arnaldo (1997), sendo o período de emergência mais curto que o de *B. servadeii*.

O seu pico de emergência ocorreu antes do período da postura da processionária do pinheiro o que implica a sobrevivência do parasitóide durante várias semanas para poder parasitar a próxima geração do hospedeiro (Julho-Setembro). Segundo Tsankov *et al.* (1996) o encirtídeo não está bem adaptado ao hospedeiro. Battisti *et al.* (1989) afirma que *O. pityocampae* só consegue reproduzir-se na presença de hospedeiros alternativos.

Schmidt *et al.* (1999) mostraram que em condições laboratoriais os adultos de *O. pityocampae* podem sobreviver até seis semanas, e os adultos de *B. servadeii* podem chegar a ultrapassar as treze semanas, utilizando para tal uma solução de mel, o que lhes permite chegar à próxima geração do hospedeiro, mas duvida-se que tal possa acontecer no campo.

O MeSa como composto volátil libertado por plantas atacadas por fitófagos tem a propriedade de atrair inimigos naturais de insectos fitófagos (Lee, 2010; James, 2003). Estudos em culturas de lúpulo em Washington mostraram que o crisopídeo *Chrysopa nigricornis* foi atraída em maior número para armadilhas com cola com MeSa do que para as mesmas armadilhas sem MeSa (James, 2003). Em culturas de morango, Lee (2010) observou que talhões onde foram colocados difusores de MeSa o número de pragas não aumentou nem diminuiu, mas em contrapartida viu aumentar a abundância de inimigos naturais.

No presente estudo, foi dado ênfase ao efeito do MeSa nos parasitóides da processionária do pinheiro. Foi observado que o número de ovos parasitados em posturas sujeitas a tratamento com MeSa foi semelhante ao número de ovos no controlo, não existindo assim diferenças significativas entre tratamentos.

Por dose foi observado um maior número de indivíduos de *O. pityocampae* e *B. servadeii* para doses intermédias de Salicilato de Metilo, 5 e 25ml, decrescendo para a dose de MeSa mais elevada de 50 ml. Este resultado poderá indiciar um efeito de dose em que doses intermédias podem ser atractivas enquanto doses elevadas poderão ser repulsivos. Mais estudos serão necessários, com um maior número de réplicas de árvores tratadas, para confirmar esta hipótese.

Conforme sugerido por Dicke *et al.* (1990), o aumento na eficiência de busca dos inimigos naturais através do uso de plantas que emitem maiores concentrações de aleloquímicos a eles atractivos é uma das melhores possibilidades de uso de infoquímicos no controle de pragas. Portanto, investigações no sentido de seleccionar proveniências de

pinheiros com maior potencial de liberação de voláteis atractivos a *O. pityocampae* e *B. servadeii* poderiam levar a um acréscimo do efeito controlador destes predadores sobre populações de *T. pityocampae*, o que poderá, de igual modo ser investigado em trabalhos futuros.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

**Alemaný**, A., Miranda, M. A., Morell, P. (1994). Primeiros resultados del estudio sobre parasitismo en huevos de *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.), en Baleares. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas*, 20, 679-685.

**Alves**, J., M., S. Espírito Santo, M., D., Costa, J., C., Gonçalves, J. H. C., Lousã, M. (1998). Habitats naturais e seminaturais de Portugal Continental. Tipos de habitats mais significativos e agrupamentos vegetais característicos. Sintaxonomia dos agrupamentos vegetais mais representativos em Portugal Continental. *Instituto da Conservação da Natureza e Biodiversidade, Divisão de Informação e Divulgação*, Lisboa.

**Arnaldo**, P. M. S. (1997). Parasitoidismo de ovos de *Thaumetopoea pityocampa* Schiff., em Trás-os-Montes. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Dissertação de mestrado, 125pp.

**Arnaldo**, P. M., Pinheiro, P., Torres, L., (2000). Mortalidade natural de ovos de processionária do pinheiro *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. Em *Pinus* spp.. *Actas do IX Congresso Ibérico de Entomologia*. Zaragoza, 166pp.

**Arnaldo**, P. M. S. O. (2003). Contribuição para o conhecimento da processionária do pinheiro *Thaumetopoea pityocampa* (Den & Schiff.) – Morfologia, bioecologia e protecção contra a praga. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro. Vila Real. 511pp.

**Arnaldo** PS, Torres LM. (2005). Spatial distribution and sampling of *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) (Lep. Thaumetopoeidea) populations on *Pinus pinaster* Ait. in Montesinho, N. Portugal. *Forest Ecology and Management* 210, 1-7.

**Athanassiou**, C. G., Kavallieratos, N. G., Gakis, S. F., Kyrtsa, L. A., Mazomenos, B. E., Gravanis, F. T. (2006). Influence of trap type, trap colour, and trapping location on the capture of the pine moth, *Thaumetopoea pityocampa*. *The Netherlands Entomological Society*, 117-123.

**Aukema**, H., B., Raffa, F., K. (2005). Selective manipulation of predators using pheromones: responses to frontalin and ipsdienol pheromone components of bark beetles in the Great Lakes region. *Agricultural and Forest Entomology*, 7: 193–200.

**Bachiller**, P., Cadahia, D., Ceballos, G., Cobos, J. M., Cuevas, P., Dafaue, C., Davila, J., Gonzalez, J. R., Hernandez, R., Ledesma, L., Mallen, J. A., Molina, J., Montoya, R., Neira, M., Obama, E., Riesgo, A., Robredo, F., Romanyk, N., Ruperez, A., Sanchez, A., Soria, S., Toimil, F. J., Torrent, J. A. (1981). *Plagas de insectos en las masas forestales españolas*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.

**Barbaro**, L., Couzi, L., Bretagnolle, V., Nezan, J., Vetillard, F. (2007). Multi – scale habitat selection and foraging ecology of the Eurasian hoopoe (*Upupa epops*) in pine plantations. *Biodiversity and Conservation*, 17: 1073-1087.

**Battisti**, A. (1989). Field studies on the behavior of the two egg parasitoids of the pine processionary moth *Thaumetopoea pityocampa*. *Entomophaga*, 34(1): 29-38

**Battisti**, A., Ianne, P., Milani, N., Zanata, M. (1990). Preliminary accounts on the rearing of *Ooencyrtus pityocampae* (Mercet) (Hym., Encyrtidae). *Journal of Applied Entomology*, 110: 121-127.

**Battisti**, A., Bernardi, M., Ghirardo, C. (2000). Predation by the hoopoe (*Upupa epops*) on pupae of *Thaumetopoea pityocampa* and the likely influence on other natural enemies. *BioControl*, 45(3):311-323.

**Bellin**, S., Schmidt, G. H., Douma-Petridou, E. (1990). Structure, ooparasitoid spectrum and rate of parasitism of egg-batches of *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) (Lep., Thaumetopoeidae) in Greece. *Journal of Applied Entomology*, 110: 113-120.

**Biliotti**, E. (1958). Les parasites et prédateurs de *Thaumetopoea pityocampa* Aschiff. (Lepidoptera). *Entomophaga*, 3, 23-24.

**Biliotti**, E., Vago, C., Halperin, J., (1962). *Une virose de Thaumetopoea wilkinsoni et ses rapports avec la polyedrie cytoplasmique de T. pityocampa* Schiff. (Lepidoptera). *Entomophaga*, 11, 153-156.

**Branco**, M., Santos, M., Calvao, T., Telfer, G., Paiva, M.R. (2008). Pragas e doenças em Pinhal e Eucaliptal Desafios para a sua gestão integrada. *ISA Press*, 234pp.

**Cabral, M. T. C.** (1979). Contribuição para o conhecimento da tabela de vida da processionária do pinheiro (*Thaumetopoea pityocampa* Schiff.). Anais do Instituto Superior de Agronomia, 38, 181-195.

**Cabral, M. T.** (1982). Acção dos parasitas oófagos na diminuição da população da processionária do pinheiro (*Thaumetopoea pityocampa* Schiff.). Notas Técnico-científicas, INIA. EFN. Lisboa. 17pp.

**Cabral, L., Cardoso, T., M., Heitor, C., P., F.,** (1969). Acção Do *Bacillus thuringiensis* Sobre a *Tortrix Viridana*. Pragas e doenças do sobreiro/declínio do montado. Anais do Instituto Superior de Agronomia, 36, 187-201.

**Calvão, T., Branco. M., Pimental. C.** (2008). Vegetação e paisagem: relação entre diversidade e fitófagos. ISA Press, 4, 161-172

**Cardoso, J. C., Bessa, M. T., Marado, M. B.** (1973). Carta de solos de Portugal (1:1 000000). Separata da *Agronomia Lusitana*, 32: 481-602.

**Ceballos, P. & Sánchez, A.,** (1962). Notas sobre los parásitos y tratamientos contra la procesionaria del pino (*Thaumetopoea pityocampa* Schiff.). *Bol. Del Serv. Plagas Forestales*, 9, 20-32, Madrid.

**Deng, C., Zhang, X., Zhu W., Qian J.** (2004) Investigation of tomato plant defense response to tobacco mosaic virus by determination of methyl salicylate with SPME-capillary GC-MS. *Chromatographia*, 59, 263–267.

Devkota, B., Schmidt, G.H., (1990). Larval development of *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) (Lep., Thaumetopoeidae) from Greece as influenced by different host plants under laboratory conditions. *Journal of Applied Entomology*. 109, 321–330.

**Dewick, P. M.** (2002). The biosynthesis of C5 – C25 terpenoid compounds. *Natural Product Reports*. 19. 181-222.



**Dicke**, M. and Sabelis, M., W. (1988). How plants obtain predatory mites as bodyguards. *Netherlands Journal of Zoology*. 38:148–165.

**Dicke**, M., Sabelis, M.W., Takabayashi, J., Bruin, J., and Posthumus, M.A. (1990). Plant strategies of manipulating predator–prey interactions through allelochemicals: Prospects for application in pest control. *Journal Chemical Ecology*. 16:3091–3118.

**Dicke**, M., Takabayashi, J., Posthumus, M. A., Schutte, C., and Krips, O. E. (1998). Plant-phytoseiid interactions mediated by prey-induced plant volatiles: Variation in production of cues and variation in responses of predatory mites. *Experimental and Applied Acarology*. 22:311–333.

**Drukker**, B., Bruin, J., and Sabelis, M. 2000. Anthocorid predators learn to associate herbivore-induced plant volatiles with presence or absence of prey. *Physiological Entomology*. 25:260–265.

**Du**, Y., Poppy, G. M., Powell, W., Pickett, J. A., Wadhams, L. J., Woodcock, C. M. (1998). Identification of semiochemicals released during aphid Feeding that attract parasitoid *Aphidius ervi*. *Journal of Chemical Ecology* 8, 1355-1365.

**Ferreira**, M. C. (1992). A processionária do pinheiro: ciclo biológico, dinâmica das populações, danos e meios de luta. *Vida Rural*, 40(16), 5-11.

**Ferreira**, M. C. (1998). *Manual dos insectos nocivos às plantações florestais*. Plátano Edições Técnicas, 1ª Edição, Lisboa, pp. 267-280.

**Ferreira**, M., M., C. (2004). Estudo da Dinâmica Populacional Da Processionária do Pinheiro *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) (Lepidoptera, Thaumetopoeidae) com relevo para o Parasitoidismo Oófago. Relatório do trabalho de fim de curso de Engenharia Florestal. Instituto Superior de Agronomia. Universidade Técnica de Lisboa.

**Ferreira**, M. C. & Cabral, M. T. (1999). *Pragas do pinhal*. Estação Florestal Nacional. Lisboa, pp. 13-24.

**Gravaud**, A. (1988) The pine processionary caterpillar. *Phytoma*, 394: 57-58

**Halperin, J.** (1990). Natural enemies of *Thaumetopoea* spp. (Lep., Thaumetopoeidae) in Israel. *Journal Applied Entomology*, 109: 425-435.

**Hardie, J., Isaacs, R., Pickett, J. A., Wadhams, L. J., Woodcock, C.M.** 1994. Methyl salicylate and (j)-(1R,5S)-myrtenal are plant-derived repellents for black bean aphid, *Aphis fabae* Scop. (Homoptera: Aphididae). *Journal Chemical Ecology*. 20: 2847–2855.

**Huchon, H. & Demolin, G.** (1971). The bioecology of the Pine processionary (*Thaumetopoea pityocampa*). Potential and current distribution. *Phytoma*, 23: 11

**IA** (Instituto do Ambiente) (2003). Atlas Digital do Ambiente. Ministério do Ambiente e do Ordenamento do Território.

**James D. G.** (2003a). Field evaluation of herbivore-induced plant volatiles as attractants for beneficial insects: methyl salicylate and the green lacewing, *Chrysopa nigricornis*. *Journal of Chemical Ecology* 29: 1601-1609.

**James D. G.** (2003b). Synthetic Herbivore-Induced Plant Volatiles as Field Attractants for Beneficial Insects. *Environmental entomology* 32: 977-982.

**James D. G., Price T. S.** (2004). Field-testing of Methyl Salicylate for recruitment and retention of beneficial insects in grapes and hops. *Journal of Chemical Ecology*, 30: 1613-1628

**Khan, Z. R., D. G. James, C.A.O. Midega, and J. A. Pickett.**  
2008. Chemical ecology and conservation biological control.  
*Biol. Control* 45: 210Ð224.

**Lamy, M.,** (1990). Contact dermatitis (erucism) produced by processionary caterpillars (Genus *Thaumetopoea*). *Journal of Applied Entomology*. 110: 425-437.

**Lee, J. C.** (2010). Effect of Methyl Salicylate-Based Lures on Beneficial and Pest Arthropods in Strawberry. *Environmental Entomology*. 39(2): 653-660.

**Losel**, P. M., Lindemann, M., Scherckenbeck, J., Maier, J., Engelhard, B., Campbell, C. A. M., Hardie, J., Pickett, J. A., Wadham, L. J., Elbert, A. (1996). The potential of semiochemicals for control of *Phorodon humuli* (Homoptera: Aphididae). *Pesticide Science*. 48: 293-303.

**Martinho**, A. P. T. (2003). Orthoptera Do Ecossistema Pinhal. Dissertação apresentada para obtenção do Grau de Doutor em Engenharia do Ambiente, Especialidade em Sistemas Naturais. Universidade Nova de Lisboa, Faculdade de Ciências e Tecnologia.

**Masutti**, L. & Battisti, A. (1990). *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) in Italy. Bionomics and perspectives of integrated control. *Journal of Applied Entomology*, 110: 229-234.

**Masutti**, L.; Battisti, A.; Norberto, M.; Zanata, M. (1992). First success in the *In Vitro* rearing of *Ooencyrtus pityocampae* (Mercet) (Hym. Encyrtidae). Preliminary Note. *Redia*, 75: 227-232.

**Mirchev**, P., Schmidt, G. H., Tsankov, G. (1998). The egg parasitoids of the processionary moth *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) in the Eastern Rhodopes, Bulgaria. *Bollettino di Zoologia Agrária e di Bachicoltura*, 30(2): 131-140.

**Mirchev**, P., Schmidt, G. H., Tsankov, G., Pllana, S. (1999). Egg parasitoids of the processionary moth *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) collected in Albania. *Bollettino di Zoologia Agrária e di Bachicoltura*, 31: 152-165.

**Mumm**, R. & Hilker, M. (2005). The significance of background odour for an egg parasitoid to detect plants with host eggs. *Chemical Senses*, 30: 337-343.

**Mumm**, R. & Hilker, M. (2006). Direct and indirect chemical defense of pine against folivorous insects. *Trends in Plant Science*, 11: 351-358.

**Neves**, M.A.C.S. (2000). Estudos de dinâmica populacional da processionária do pinheiro, *Thaumetopoea pityocampa* Schiff., (Thaumetopoeidae, Lepidoptera), com relevo para o parasitismo da fase larvar. Relatório do trabalho de fim de curso de Engenharia Florestal. Instituto Superior de Agronomia – Universidade técnica de Lisboa. 60pp.

**Ninkovic**, V., Ahmed, E., Glinwood, R., Pettersson, J. (2003). Effects of two types of semiochemical on population development of the bird cherry oat aphid *Rhopalosiphum padi* in a barley crop. *Agricultural and Forest Entomolog*, 5: 27–33.

**Oliveira**, P., Arnaldo, P. S., Araújo, M., Ginja, M., Sousa, A. P., Almeida, O., e Colaço, A., (2003). Report of poison in five dogs after contact with *Thaumetopoea pityocampa*. *Revista Portuguesa de Ciências Clínicas*, 89 (547): 81-84.

**Ozawa**, R., Arimura, G., Takabayashi, J., Shimoda, T., Nishioka, T. (2000b). Involvement of jasmonate and salicylate-related signaling pathway for the production of specific herbivore induced volatiles in plants. *plant and cell physiology*, 41: 391-398.

**Ozawa**, R., Shimoda, T., Kawaguchi, M., Arimura, G., Horiuchi, J., Nishioka, T., Takabayashi, J. (2000a). *Lotus japonicus* infested with herbivorous mites emits volatile compounds that attract predatory mites. *Journal of Plant Research*, 113: 427-433.

**Pare**, P. W. & Tumlinson, J. H. (1996). Plant volatile signals in response to herbivore feeding. *Florida Entomology*, 19: 93-103.

**Pettersson**, J., Pickett, J. A., Pye, B. J., Quiroz, A., Smart, L. E., Wadhams, L. J., Woodcock, C. M. (1994). Winter host component reduces colonization by bird-cherry-oat aphid, *Rhopalosiphum padi* (L.) (Homoptera: Aphididae) and other aphids in cereal fields. *Journal Chemical Ecology*, 20: 2565-2574.

**Pimentel**, C., Tavares, A., Paiva, M.R. 2000. Estudos sobre dinâmica populacional e ecologia alimentar da processionária do pinheiro *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera, Thaumetopoeidae) em Portugal. *Revista Biologia*. (Lisboa), 18: 105-115.

**Rechcigl**, J. E., Rechcigl, N. A. (2000). Inset pest management – Techniques for Environmental Protection. *Lewis Publishers*. 392pp.

**Robredo**, F. (1963). (The pupation procession in *Thaumetopoea pityocampa* Schiff.). *Boletín del Servicio de Plagas Forestales*, 12: 122-129.

**Sacchettini**, C. J. and Poulter C. D. (1997). Creating Isoprenoid Diversity. *Science*, 277: 1788-1789.

**Schmidt, G. H. & Douma – Petridou, E. (1989).** A contribution to Parasitism of Egg Batches of *Thaumetopoea pityocampa* ( Den. & Schiff.) (Lep., Thaumetopoeidae) on the Peloponnes (Greece). *Bolletino Di Zoologia Agraria e di bachicoltura*, 21: 141-151

**Schmidt, G. H. (1990).** The egg-batch of *Thaumetopoea pityocampa* ( Den. & Schiff.) (Lep., Thaumetopoeidae): structure, hatching of the larvae and parasitism in southern Greece. *Journal of Applied Entomology*, 110: 217-228.

**Schmidt, G. H. & Tazen, E. (1998).** Copulation behaviour and reproduction of mated and unmated females of *Ooencyrtus pityocampae* (Mercet) (Hymenoptera, Chalcidoidea, Encyrtidae), an important egg parasitoid of the pine processionary moth. *Bollettino di Zoologia Agraria e di Bachicoltura*, 30(2): 141-15.

**Schmidt, G. H. Breuer, M; Devkota, B.; Bellin, S. (1989).** Life cycle and natural enemies of *Thaumetopoea pityocampa* ( Den. & Schiff.) in Greece. *Proceedings of the Thaumetopoea-Symposium: 36-40pp.*

**Schmidt, G. H. Mirchev, P., Tsankov, G. (1997b).** The egg parasitoids of *Thaumetopoea pityocampa* in the Atlas Mountains near Mattakech (Morocco). *Phytoparasitica* 25: 275-281.

**Schmidt, G. H. Mirchev, P.; Tsankov, G. (1997).** Notes on the egg parasitoids of *Thaumetopoea pityocampa* ( Den. & Schiff.) (Insecta, Lepidoptera, ., Thaumetopoeidae) collected on the Greek island Hydra. *Bolletino di Zoologia Agraria e di bachicoltura*, 29: 91-99.

**Schmidt, G. H.; Tanzen, E.; Bellin, S. (1999).** Estructure of egg- batches of *Thaumetopoea pityocampa* ( Den. & Schiff.) (Lep., Thaumetopoeidae), egg parasitoids and rate of egg parasitism on the Iberian Peninsula. *Journal of Applied Entomology*, 123: 449-458.

**Seskar, M., Shulaev, V., Raskin, I. (1998).** Endogenous Methyl Salicylate in Pathogen-Inoculated Tobacco Plants. *Plant Physiology*, 116: 387-392.

**Shulaev, V, Leon, J, Raskin, I. (1995).** Is salicylic acid a translocated signal of systemic acquired resistance in tobacco? *Plant Cell*, 7: 1691-1701.

**Severino, E. A. C.** (2003). *Fertilidade e parasitismo oóforo da Processionária do pinheiro (Thaumetopoea pityocampa Schiff.)*. Relatório do trabalho de fim de curso de Engenharia Florestal. Instituto Superior de Agronomia – Universidade Técnica de Lisboa. 44 pp.

**Tiberi, R.** (1990). Egg parasitoids of the pine processionary moth *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) (Lep., Thaumetopoeidae) in Italy: distribution and activity in different areas. *Journal Applied Entomology*, 110: 14-18.

**Trapp, S., Croteau, R.,** (2001). Defensive resin biosynthesis in conifers. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 52: 689–724.

**Triggiani, O., Lillo, E., Addante, R.** (1993). La processionaria del pino, *Thaumetopoea pityocampa* (Den. et Schiff.) (Lepidoptera: Thaumetopoeidae), e i suoi nemici naturali in Puglia. *Entomologica*, 27: 139-167.

**Tsankov, G.** (1990). Egg parasitoids of the pine processionary moth, *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) (Lep., Thaumetopoeidae) in Bulgaria: Species, importance, biology and behavior. *Journal of Applied Entomology*, 110: 7-13.

**Tsankov, G.; Schmidt, G. H.; Mirchev, P.** (1995). Impact of parasitoids in egg-batches of *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) in Algeria. *Bollettino di Zoologia Agraria e di Bachicoltura*, 27: 53-60.

**Tsankov, G.; Schmidt, G. H.; Mirchev, P.** (1996). Structure and parasitism of egg-batches of a processionary moth population different from *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) (Lep., Thaumetopoeidae) found in Bulgaria. *Bollettino di Zoologia Agraria e di Bachicoltura*, 28(2): 195-207.

**Tsankov, G.; Schmidt, G. H.; Mirchev, P.** (1998). Studies on the egg parasitism in *Thaumetopoea pityocampa* over a period of four years (1991-1994) at Marikostino/Bulgaria. *Anzeiger für Schädlingskunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz*, 71: 1-7.

**Tsankov, G.; Douma – Petridou, E.; Mirchev, P.; Georgiev, G; Koutsaftikis, A.** (1999). Spectrum of Egg Parasitoids and rate of Parasitism of Egg Batches of the pine processionary moth *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) in the Northern Peloponnes/Greece. *Journal of the Entomological Research Society*, 1: 1-8.

**Tumlinson**, H., J. (1988). Contemporary Frontiers In Insect Semiochemical Research. *Journal of Chemical Ecology*, 14(11), 2109-2130.

**Turlings**, T. C. J., Tumlinson, J. H., Lewis, W. J. (1990). Exploitation of herbivore-induced plant odors by host-seeking parasitic wasps. *Science*, 250: 1251-1253.

**Vega**, J. M., Moneo, I., Armentia, A., Vega, V., de la Fuente, R., Fernandez, A., (2000). Pine processionary caterpillar as a new cause of immunologic contact urticaria. *Contact Dermatitis*, 43: 129-132.

**Way** , M.J., Paiva, M.R., Cammell , M.E. (1999). Natural biological control of the pine processionary moth *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) by the Argentine ant *Linepithema humile* (Mayr) in Portugal . *Agricultural and Forest Entomology*, 1: 27-31.

## AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi parcialmente suportado pelo projecto PTDC/AGR-CFL/73107/2006, financiado pela Fundação da Ciência e Tecnologia.

Consegui!

Foi um caminho longo e árduo, de pontos altos e baixos mas acima de tudo de persistência.

À Professora Manuela Branco, fica o meu agradecimento e admiração pela orientação, apoio e acima de tudo pelos ensinamentos.

Às minhas colegas de laboratório Susana, Catarina e Helena, pela simpatia e disponibilidade.

Ao Henrique Vieira pela ajuda, amizade e pescarias.

Aos meus amigos Vera Nunes, João Ricardo, Filipe Cabana e Rodrigo Castanheira, acima de tudo, por serem quem são...meus amigos.

Ao Luís Moreira, onde quer que estejas um grande abraço e obrigado.

À Vera, a quem nenhuma palavra ou frase aqui escrita conseguirá demonstrar a importância que tem na minha vida.

Aos meus Pais, que me deram tudo.

Obrigado.



# **ANEXOS**

## ANEXO 1

### Principais antagonistas naturais da processionária do pinheiro

<b>Ovos</b>	<b>Parasitóides</b>	<i>Ooencyrtus pityocampae</i> Mercet (Hym., Encyrtidae) <i>Baryscapus servadeii</i> Dom. (Hym., Eulophidae) <i>Trichogramma embryophagum</i> Htg. (Hym., Trichogrammatidae) <i>Trichogramma semblidis</i> Aur. (Hym., Trichogrammatidae) <i>Anastatus bifasciatus</i> Boyer de Fons. (Hym., Eupelmidae) <i>Tetrastichus tibialis</i> Kurdj (Hym., Eulophidae) <i>Eupelmella vesicularis</i> Retzius (Hym., Eupelmidae) <i>Eupelmus seculatus</i> (Ferrière) (Hym., Eupelmidae)
	<b>Predadores</b>	<i>Epphiger epphipiger</i> (Fiebig) (Orth., Tettigonidae) <i>Oecanthus pellucens</i> (Scopoli) (Orth., Gryllidae)
<b>Larvas</b>	<b>Parasitóides</b>	<i>Phryxe caudate</i> Rond. (Dipt., Tachinidae) <i>Comsilura concinnata</i> Meig. (Dipt., Tachinidae) <i>Meteorus versicolor</i> Wesmael (Hym., Braconidae) <i>Erigorgus femorator</i> (= <i>Anomalon latro</i> ) Aubert (Hym., Ichneumonidae)
	<b>Predadores</b>	<i>Xanthandrus comptus</i> Harris (Dipt. Syrphidae) <i>Carabus graecus</i> Dejean (Col., Carabidae) <i>Linepithema humile</i> (Mayr) (Hym., Formicidae) <i>Crocidura russula</i> (Insect., Soricidae) <i>Parus major</i> (Passerif., Paridae) <i>Upupa epops</i> (Upupif., Upupidae)
	<b>Fungos/Bacterias/Vírus Protozoários</b>	<i>Bacillus thuringiensis</i> Berliner <i>Beauveria bassiana</i> Vuill. (Classe Deuteromiceta)
<b>Pupas</b>	<b>Parasitóides</b>	<i>Villa brunnea</i> Becker (Dipt., Bombylidae) <i>Coelichneumon rudis</i> (Fonsec.) (Hym., Ichneumonidae)
	<b>Predadores</b>	<i>Calasoma scycophanta</i> L. (Col., Carabidae)
	<b>Fungos/Bacterias/Vírus Protozoários</b>	<i>Beauveria bassiana</i> Vuill. (Classe Deuteromiceta) <i>Cordyceps militaris</i> (Classe ascomycetes)
<b>Imagos</b>	<b>Predadores</b>	<i>Camponotus sylvaticus</i> Ol. (Hym. Formicidae)

## ANEXO 2

### Média de machos por dose

#### 2.1 Teste de Normalidade de Kolmogorov-Smirnov

##### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Dose de MeSa	media de machos por dose
N		24	24
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	20,0000	10,6238
	Std. Deviation	20,10840	7,59943
Most Extreme Differences	Absolute	,272	,139
	Positive	,272	,139
	Negative	-,182	-,095
Kolmogorov-Smirnov Z		1,333	,679
Asymp. Sig. (2-tailed)		,057	,747*

a. Test distribution is Normal.

\*As diferenças são significativas para um nível de significância de 0.05

#### 2.2 ANOVA

média de machos por dose

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	61,489	3	20,496	,324	,808*
Within Groups	1266,792	20	63,340		
Total	1328,282	23			

\*As diferenças são significativas para um nível de significância de 0.05

## ANEXO 3

## Comparação de machos capturados em pontos com MeSA (independentemente da dose) com o controle

### 3.1 Teste de Normalidade de Kolmogorov-Smirnov

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Sem Salicilato= 1 Com Salicilato= 2	media
N		24	24
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	1,75	10,6238
	Std. Deviation	,442	7,59943
Most Extreme Differences	Absolute	,464	,139
	Positive	,286	,139
	Negative	-,464	-,095
Kolmogorov-Smirnov Z		2,273	,679
Asymp. Sig. (2-tailed)		,000	,747

a. Test distribution is Normal.

### 3.2 ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4,998	1	4,998	,083	,776*
Within Groups	1323,283	22	60,149		
Total	1328,282	23			

\*As diferenças são significativas para um nível de significância de 0.05

## ANEXO 4

### Resposta dos parasitóides ao MeSA

#### 4.1 Teste de Normalidade de Kolmogorov-Smirnov

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Sem Mesa =1 Com MeSa=2	ovos parasitados
N		262	262
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	1,58	18,04
	Std. Deviation	,495	25,880
Most Extreme Differences	Absolute	,380	,243
	Positive	,301	,239
	Negative	-,380	-,243
Kolmogorov-Smirnov Z		6,155	3,932
Asymp. Sig. (2-tailed)		,000*	,000*

a. Test distribution is Normal.

\*As diferenças são significativas para um nível de significância de 0.05

#### 4.2 Kruskal-Wallis Test

**Ranks**

ovos parasitados	N	Mean Rank
Sem Mesa =1 Com MeSa=2 0	101	139,34
1	16	153,12
2	6	99,17
3	5	159,60
4	4	153,12
5	3	142,33
6	5	133,70
7	8	120,75
8	6	142,33
9	1	56,00
10	1	56,00
12	3	142,33
13	1	56,00
14	2	120,75
15	3	99,17
16	5	133,70
17	4	88,38
18	1	185,50
19	4	88,38

	20	2	120,75
	21	2	120,75
	22	1	56,00
	23	6	142,33
	24	1	185,50
	25	1	185,50
	26	2	56,00
	27	2	120,75
	29	1	56,00
	30	1	56,00
	31	1	56,00
	32	2	120,75
	33	3	99,17
	34	1	185,50
	35	4	185,50
	36	2	185,50
	39	2	120,75
	40	3	142,33
	42	2	185,50
	44	3	142,33
	47	1	185,50
	48	1	56,00
	49	4	88,38
	50	2	56,00
	51	3	99,17
	53	2	120,75
	54	1	56,00
	55	1	56,00
	59	1	185,50
	63	1	185,50
	64	1	56,00
	65	1	56,00
	67	1	185,50
	69	1	185,50
	70	1	56,00
	71	2	120,75
	72	1	56,00

73	2	185,50
74	1	56,00
75	1	56,00
76	1	56,00
78	1	56,00
80	1	185,50
82	2	120,75
83	1	185,50
85	1	56,00
87	1	56,00
95	1	56,00
Total	259	

**Test Statistics<sup>a,b</sup>**

	Sem Mesa =1 Com MeSa=2
Chi-Square	64,648
Df	66
Asymp. Sig.	,524

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: ovos parasitados

\*As diferenças são significativas para um nível de significância de 0.05

## ANEXO 5

### Resposta das fêmeas grávidas ao MeSa

## 5.1 Teste de Normalidade de Kolmogorov-Smirnov

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

	dose 5+25 ou dose 0	número de ninhos
N	1354	1354
Normal Parameters <sup>a</sup>		
Mean	,3464	,6019
Std. Deviation	,47599	,75851
Most Extreme Differences Absolute	,420	,317
Positive	,420	,317
Negative	-,262	-,214
Kolmogorov-Smirnov Z	15,463	11,675
Asymp. Sig. (2-tailed)	,000*	,000*

a. Test distribution is Normal.

\*As diferenças são significativas para um nível de significância de 0.05

## 5.2 Teste não paramétrico Kruskal-Wallis

**Ranks**

número de ninhos	N	Mean Rank
dose 5+25 ou dose 0 0	719	677,45
1	494	670,49
2	107	677,10
3	31	814,26
4	2	443,00
6	1	443,00
Total	1354	

**Test Statistics<sup>a,b</sup>**

	dose 5+25 ou dose 0
Chi-Square	7,406
Df	5
Asymp. Sig.	,192*

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: número de ninhos

\*As diferenças são significativas para um nível de significância de 0.05





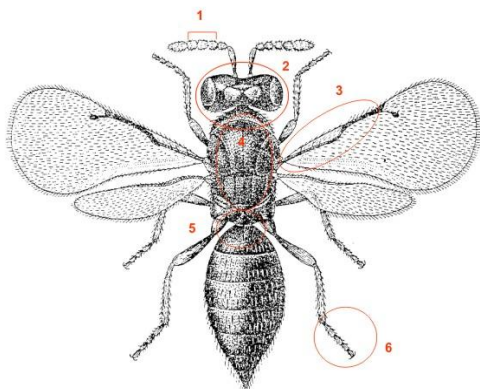
## Anexo 6

### Descrição morfológica das espécies de parasitóides oófagos estudados

#### **Bariscapus servadeii Dom. (Hymenoptera, Eulophidae)**

**Descrição morfológica:** Indivíduos com um comprimento entre 1.7 e 2.1 mm.

Antenas pardas de 7 artículos, tendo o funículo 3 segmentos distintos; escape alongado na fêmea, não tão distintamente alongado no macho. Corpo verde azulado a negro de brilho metálico muito convexo; escudo do mesanoto com uma sutura longitudinal; patas amarelas com os dois últimos artículos do tarso castanho, tarso de 4 artículos, asas anteriores grandes e arredondadas. Nervura marginal interrompida no pterostigma, projectando-se no apex delgado da nervura sub-marginal. A armadura genital da fêmea é igeiramente mais comprida e saliente; oviscapto curto. Terminação do abdómen em bisel.



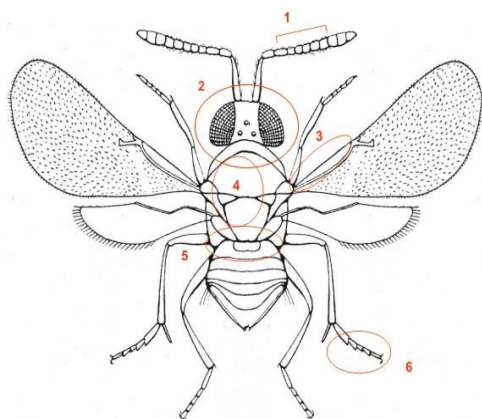
#### **Características morfológicas:**

1. Antena: funículo com 3 segmentos
2. Cabeça com fronte côncava;
3. Asa anterior com veio sub-marginal e marginal proeminente e comprido;
4. Tórax: mesonoto com uma e escutelo com duas suturas longitudinais médias proeminentes;
5. Segmento anterior do abdômen: estreito na base;
6. Tarso: 4 segmentos.

## **Ooencyrtus pityocampae Mercet (Hymenoptera, Encyrtidae)**

**Descrição morfológica:** Indivíduos com um comprimento entre 1.1 a 1.5 mm.

Cabeça grande de cor verde azulada com reflexos dourados. Mandíbulas avermelhadas, antenas amarelas; o ovíscapo é quase tão longo como os primeiros artigos do funículo; pedicelo mais curto que os primeiros artigos seguintes, massa ovóide alargada e mais comprida que o funículo. Escudo do mesonoto, axilas, escudete e pleuras verdes com alguns reflexos dourados; metatórax de cor bronze; patas amarelas sendo o último artigo dos tarsos negro, o esporão das tíbias intermédias é um pouco mais curto que o metatarso. Asas jialinas com as pestanas marginais muito curtas e o estigma relativamente largo. Abdômen mais curto que o tórax, de cor esverdeado-pardo com propriedades metálicas; ovíscapo grande e pouco saliente. O macho difere da fêmea pela cor das antenas que são pardas e o pedicelo é mais curto que o primeiro artigo do funículo e a massa é lanceolada e um pouco mais curta que a da fêmea.



### **Características morfológicas:**

1. Antena: funículo com 6 segmentos;
2. Cabeça com fronte convexa;
3. Asa anterior com veio sub-marginal comprido e veio marginal ausente;
4. Tórax: mesonoto e escutelo sem suturas médias;
5. Segmento anterior do abdômen: sésil;
6. Tarso: 5 segmentos.